

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
FRAKSI AIR, ETIL ASETAT, n-HEKSANA HASIL HIDROLISIS
EKSTRAK METANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)**

SKRIPSI

**Oleh :
SAFIRA MAKHRUSAH
NIM. 17630037**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
FRAKSI AIR, ETIL ASETAT, n-HEKSANA HASIL HIDROLISIS
EKSTRAK METANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)**

SKRIPSI

**Oleh:
SAFIRA MAKHRUSAH
NIM. 17630037**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
FRAKSI AIR, ETIL ASETAT, n-HEKSANA HASIL HIDROLISIS
EKSTRAK METANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
SAFIRA MAKHRUSAH
NIM. 17630037

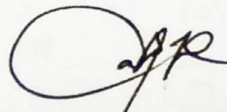
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 17 Desember 2021

Pembimbing I



A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Pembimbing II



Lulu'atul Hamdatu Ulya, M.Sc
NIP. 19900906 201802021 2 239

Mengetahui,
Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

HALAMAN PENGESAHAN
IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
FRAKSI AIR, ETIL ASETAT, n-HEKSANA HASIL HIDROLISIS
EKSTRAK METANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)

SKRIPSI

Oleh :
SAFIRA MAKHRUSAH
NIM. 17630037

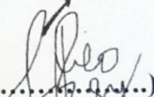
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 24 Desember 2021

Penguji Utama : Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

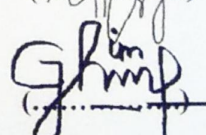
(.....

.....)

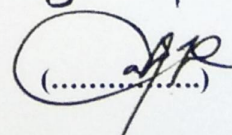
Ketua Penguji : Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si
NIP. 19831226 20180201 2 249

(.....

.....)

Sekretaris Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

(.....

.....)

Anggota Penguji : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIP. 19900906 201802021 2 239

(.....

.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Kimia,


Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Safira Makhrusah
NIM : 17630037
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Asetat, n-Heksana Hasil Hidrolisis ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

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

Malang, 24 Desember 2021
Yang membuat pernyataan



Safira Makhrusah
NIM. 17630037

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahillobbil'alamin.....

Sujud syukur kusembahkan kepadaMu ya Allah yang maha pengasih dan maha kuasa atas segala hal yang ditakdirkan untuk saya sehingga bisa menjadi pribadi yang berpikir, berilmu, beriman dan bersabar menerima segala nikmat yang telah Engkau berikan. Salah satunya pencapaian memperoleh gelar sarjana ini sebagai langkah untuk lebih mendekatkan diri kepadaMu zat yang Khaliq.

Karya sederhana ini dengan tulus saya persembahkan untuk kedua orang tua saya, Ibu siti Aminah dan Ayah Kasnain yang setiap waktu tak lepas melangitkan doa sebagai ridho dalam setiap langkah perjalanan hidup putrinya ini dengan bekerja keras dan tawakkal memperjuangkan sepenuh hati guna memperoleh keberkahan untuk kehidupan di dunia dan di akhirat nanti. Aamiin yarabbal alamin.

Segala perjuangan saya hingga titik ini tak lain karena teladan yang ditunjukkan oleh kakak saya, Nelly Zakiyah, S.Pd dalam meraih mimpi yang tidak mudah dan tidak mungkin untuk digapai sehingga memotivasi saya untuk memberikan kemampuan terbaik dengan penuh tanggung jawab dan dukungan serta semangat yang diberikan oleh adek saya, Chelsea Mauhubah Jamilah dan keponakan saya Adzra Nuha El-Shanum yang senantiasa mengundang canda tawa dan kesadaran untuk tidak mudah menyerah dalam menjalani setiap fase kehidupan.

Tidak bisa dipungkiri kehadiran para manusia berhati emas dengan nama “teman dan sahabat” menjadi alasan kuat untuk senantiasa bersyukur dan merasa betapa beruntung telah dikelilingi orang-orang yang selalu menyediakan pundaknya untuk sekedar menampung tetesan air mata dan keluh kesah saya, mantra dan energi positif kalian mampu menguatkan. Semoga Jarak dan keadaan tidak berhasil memisahkan ikatan persaudaraan tak sedarah diantara kita.

Hal penting yang tidak bisa dilupakan adalah memaafkan dan berterimakasih kepada diri sendiri, *“Berbahagialah sayang, kau sampai pada titik ini sekarang. Selepas ini, khawatirmu tak akan berhenti. Segala pertanyaan tentang masa depan akan terus kau hadapi. Tapi jangan kau ulangi gelisah yang dulu selalu kau simpan rapat di dalam hati. Lalui hari-hari sebagaimana kau berhasil melalui hari sampai detik ini. Perjuangan belum berakhir! Ada banyak harapan yang perlu diusahakan agar menjadi manusia yang bermanfaat bagi sekitar”*.
Sesuai saat saya tersenyum membaca halaman persembahan ini, mengingat setiap kejadian yang telah dilalui dan yakin bahwa untuk memperoleh hal yang indah perlu melewati proses yang tidak mudah.

Terakhir, untuk semua pihak yang telah bertanya :

“Kapan sidang?”, “Kapan menyusul?”, “Kapan wisuda?” dan lain sejenisnya.

Terimakasih banyak karena telah menjadi salah satu dorongan untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini, salam hangat kupersembahkan untuk kalian.

-Ra

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji Syukur kehadiran Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat, nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian dengan judul “**Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Etil Asetat, n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)**”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada Nabi Muhammad saw., yang telah memberi petunjuk kepada kita menuju jalan kebenaran, yaitu agama islam. Penulis menyadari bahwa baik dalam perjalanan studi maupun penyusunan skripsi ini, penulis memperoleh bantuan, dukungan, bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Orang tua tercinta dan keluarga besar yang selalu memberi doa, motivasi untuk menuntut ilmu, serta dukungan baik moril maupun materil yang sangat berharga dan tak mungkin terbalaskan.
2. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku ketua program studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si, selaku Dosen pembimbing serta dosen wali yang telah memberi bimbingan, arahan, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran. Ibu Lu'luatul Hamidatu Ulya M.Sc, sebagai pembimbing agama saya, dan Ibu Lilik Miftahul Khoiroh sebagai penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan ilmu, nasehat serta perhatiannya hingga selesainya skripsi ini.
4. Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si, selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan, motivasi, arahan, dan dukungan sepanjang penulis menempuh pendidikan S1 di program studi kimia.
5. Seluruh civitas akademika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan pengalaman dan wawasan sebagai bekal bagi penulis.

6. Rekan-rekan penelitian saya di tim organik bahan alam khususnya riset mengenai daun beluntas yang telah memberikan banyak bantuan, informasi, motivasi, semangat, hiburan serta dukungan dalam menyusun skripsi ini.
7. Seluruh teman-teman kimia angkatan 2017 dan kawan seperjuangan kimia A, pengurus HIMASKA “Helium”, BPP Pusat dan departemen kimling, Bapewil IV IKAHIMKI, HMK Malang raya, Fungi Revolusioner, mabna Faza no.36 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, namun tidak mengurangi arti keberadaan mereka semasa perkuliahan.
8. Sahabat-sahabat saya sejak SMA khususnya emergency squad, Imuhta Kos, dan Ikahimki Buffer yang selalu mendengarkan dan menampung keluh kesah, canda tawa, kebersamaan, kepercayaan, bantuan dan energi positif.
9. Kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.

Sebagai seorang manusia dengan keterbatasan ilmu pengetahuan yang dikuasai, penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih sangat jauh dari sempurna sehingga membutuhkan masukan dan kritikan yang bersifat membangun. Oleh karena itu, penulis menerima kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga laporan hasil penelitian ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis sendiri maupun pembaca. Terima kasih.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, 24 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
مستخلص البحث	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Beluntas.....	8
2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif.....	9
2.3 Hidrolisis Glikosida	11
2.4 Partisi (Ekstraksi Cair-Cair).....	13
2.5 Antioksidan	11
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan	16
2.7 Identifikasi Senyawa Aktif	20
2.7.1 Steroid.....	20
2.7.2 Terpenoid.....	21
2.7.3 Flavonoid.....	22
2.7.4 Alkaloid	23
2.7.5 Saponin.....	23
2.7.6 Tanin.....	24
2.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik	25
2.9 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer FT-IR	27
2.10 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam.....	28
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	31
3.2 Alat dan Bahan.....	31
3.2.1 Alat	31

3.2.2 Bahan.....	31
3.3 Tahapan Penelitian.....	32
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	32
3.4.1 Preparasi Sampel	32
3.4.2 Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri	33
3.4.3 Ekstraksi Daun Beluntas.....	34
3.4.4 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair Ekstrak Pekat Metanol	35
3.4.5 Uji Antioksidan dengan DPPH.....	35
3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	35
3.4.5.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	36
3.4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dengan Uji Fitokimia.....	36
3.4.6.1 Identifikasi Steroid/Terpenoid	36
3.4.6.2 Identifikasi Flavonoid	36
3.4.6.3 Identifikasi Alkaloid	36
3.4.6.4 Identifikasi Asam Askorbat	37
3.4.6.5 Identifikasi Saponin	37
3.4.6.6 Identifikasi Tanin.....	37
3.4.7 Uji Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik...	37
3.4.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan FT-IR	38
3.5 Analisis Data.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Preparasi Sampel	39
4.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri	39
4.3 Ekstraksi Sampel.....	40
4.4 Hidrolisis dan Partisi.....	41
4.5 Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH	43
4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	43
4.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel	44
4.6 Uji Fitokimia.....	46
4.6.1 Steroid.....	46
4.6.2 Terpenoid.....	48
4.6.3 Flavonoid.....	48
4.6.4 Alkaloid	49
4.6.5 Saponin	51
4.6.6 Tanin.....	52
4.6.7 Asam Askorbat	53
4.7 Identifikasi Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik	54
4.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer FT-IR	61
4.9 Pemanfaatan Daun Beluntas dalam Perspektif Islam	64
BAB V PENUTUP.....	68
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN.....	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.)	8
Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan <i>o</i> -Glikosida.....	13
Gambar 2.3 Reaksi antara asam klorida dan natrium bikarbonat.....	13
Gambar 2.4 Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal bebas.....	16
Gambar 2.5 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	17
Gambar 2.6 Reaksi antara DPPH dengan atom H yang berasal dari antioksidan	18
Gambar 2.7 Struktur dasar steroid	21
Gambar 2.8 Unit Isopren	21
Gambar 2.9 Struktur kerangka dasar flavonoid.....	22
Gambar 2.10 Kerangka dasar alkaloid isokuinolin.....	23
Gambar 2.11 Struktur senyawa saponin	23
Gambar 2.12 Struktur senyawa tanin.....	24
Gambar 4.1 Ekstrak pekat sebelum dan sesudah hidrolisis	41
Gambar 4.2 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM.....	44
Gambar 4.3 Dugaan reaksi uji senyawa steroid/terpenoid	47
Gambar 4.4 Dugaan reaksi uji senyawa flavonoid	49
Gambar 4.5 Dugaan reaksi uji alkaloid pereaksi Mayer.....	50
Gambar 4.6 Dugaan reaksi uji alkaloid pereaksi Dragendorff	50
Gambar 4.7 Dugaan reaksi uji senyawa saponin	51
Gambar 4.8 Dugaan reaksi uji senyawa tannin	52
Gambar 4.9 Dugaan reaksi uji asam askorbat	54
Gambar 4.10 Hasil KLTA senyawa steroid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea) dan fraksi air (fa) ...	56
Gambar 4.11 Hasil KLTA senyawa terpenoid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea) dan fraksi air (fa) ...	57
Gambar 4.12 Hasil KLTA senyawa flavonoid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea) dan fraksi air (fa) ...	58
Gambar 4.13 Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea) dan fraksi air (fa) ...	59
Gambar 4.14 Hasil KLTA senyawa tanin ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea) dan fraksi air (fa) ...	61
Gambar 4.15 Spektra hasil FT-IR.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut ...	11
Tabel 2.2	Ketentuan kekuatan antioksidan	19
Tabel 4.1	Hasil ekstraksi daun beluntas.....	42
Tabel 4.2	Hasil % aktivitas antioksidan dan nilai EC ₅₀	45
Tabel 4.3	Hasil uji fitokimia	46
Tabel 4.4	Interpretasi spektra FT-IR ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea) dan fraksi air (fa).....	62
Tabel L.4.1	Data berat cawan kosong	101
Tabel L.4.2	Data berat cawan kosong + sampel.....	101
Tabel L.4.3	Data hasil rendemen ekstrak metanol	102
Tabel L.4.4	Data hasil rendemen fraksi	103
Tabel L.4.5	Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol....	104
Tabel L.4.6	Data hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol.....	104
Tabel L.4.7	Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan fraksi air.....	105
Tabel L.4.8	Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi air.....	105
Tabel L.4.9	Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat....	106
Tabel L.4.10	Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat.....	106
Tabel L.4.11	Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana...	107
Tabel L.4.12	Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana.....	107
Tabel L.4.13	Data penampakan noda dugaan senyawa steroid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ 366 nm	108
Tabel L.4.14	Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana:etil asetat (8:2).....	108
Tabel L.4.15	Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana:etil asetat (17:3).....	109
Tabel L.4.16	Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana:etil asetat (9:1).....	110
Tabel L.4.17	Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana:etil asetat (6:4).....	110
Tabel L.4.18	Data penampakan noda dugaan senyawa terpenoid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ 366 nm	111
Tabel L.4.19	Hasil pemisahan KLTA senyawa terpenoid eluen n-heksana:etil asetat (15:5).....	112
Tabel L.4.20	Hasil pemisahan KLTA senyawa terpenoid eluen n-heksana:etil asetat (17:3).....	113
Tabel L.4.21	Hasil pemisahan KLTA senyawa terpenoid eluen n-heksana:etil asetat (6:4).....	113
Tabel L.4.22	Data penampakan noda dugaan senyawa flavonoid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ 366 nm	114
Tabel L.4.23	Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-butanol: asam asetat:air (4:1:5).....	115
Tabel L.4.24	Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen kloroform:	

metanol (7:3).....	116
Tabel L.4.25 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-butanol: asam asetat:air (3:1:1).....	117
Tabel L.4.26 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-heksana:etil asetat (5:5).....	118
Tabel L.4.27 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-heksana:etil Asetat (9:1)	119
Tabel L.4.28 Data penampakan noda dugaan senyawa alkaloid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ 366 nm	119
Tabel L.4.29 Hasil pemisahan KLTA senyawa alkaloid eluen kloroform: Metanol (9:1)	120
Tabel L.4.30 Hasil pemisahan KLTA senyawa alkaloid eluen kloroform: Metanol (2:8)	121
Tabel L.4.31 Data penampakan noda dugaan senyawa tanin fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ 366 nm	121
Tabel L.4.32 Hasil pemisahan KLTA senyawa tanin eluen n-butanol:asam asetat:air (4:1:5)	122
Tabel L.4.33 Hasil pemisahan KLTA senyawa tanin eluen n-heksana:etil asetat (6:4).....	123
Tabel L.4.34 Hasil pemisahan KLTA senyawa tanin eluen n-heksana:etil asetat (19:1)	

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian.....	89
Lampiran 2. Skema Kerja.....	90
Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan	96
Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan.....	101
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian	124

ABSTRAK

Makhrusah, Safira. 2021. **Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Etil Asetat, n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Daun beluntas (*Pluchea indica* L.)**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si. Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

Kata Kunci: *Pluchea indica* L., Antioksidan, DPPH.

Beluntas (*Pluchea indica* L.) merupakan tanaman pagar yang biasanya tumbuh liar dimanfaatkan sebagai jamu tradisional atau dimakan sebagai sayuran. Terdapat senyawa aktif di dalam daun beluntas yang bersifat sebagai antioksidan, antibakteri, antipiretik, antiinflamasi, antidiuretik dan aktivitas farmakologi lainnya. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ekstrak daun beluntas yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi serta identifikasi golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstraknya.

Ekstraksi senyawa aktif daun beluntas dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak pekat metanol kemudian dihidrolisis dengan HCl 2N dan dinetralkan dengan NaHCO₃, hidrosilat diekstraksi cair-cair bertingkat menggunakan variasi pelarut yaitu air, etil asetat, dan n-heksana. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dengan variasi konsentrasi. Identifikasi senyawa dilakukan pada ekstrak dengan penambahan reagen dan karakterisasi menggunakan spektrofotometer FT-IR yang diamati secara kualitatif kemudian dipisahkan golongan senyawa menggunakan KLTA.

Hasil dari uji aktivitas antioksidan fraksi air, fraksi n-heksana, dan ekstrak metanol hasil hidrolisis daun beluntas berturut-turut sebesar 9,02; 15,64; dan 1,52 ppm. Aktivitas antioksidan tertinggi daun beluntas adalah fraksi etil asetat dengan nilai EC₅₀ sebesar 0,39 ppm. Identifikasi fitokimia fraksi etil asetat menunjukkan adanya senyawa steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, tanin, dan asam askorbat, hasil identifikasi menggunakan FT-IR menunjukkan adanya serapan gugus fungsi -CH₃, -CH₂, C=C, C=O dan C-O.

ABSTRACT

Makhrusah, Safira. 2021. **Identification and Antioxidant Activity Test of Water, Ethyl Acetate, n-Hexane Fractions from Hydrolyzed Methanol Extract of Beluntas Leaves (*Pluchea indica* L.)**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Si. Advisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

Keywords: *Pluchea indica* L., Antioxidant, DPPH.

Beluntas leaves are hedges which usually grow wild used as traditional herbal medicine or eaten as vegetables. There are active compounds in the beluntas leaves as an antioxidants, antibacterial, antipyretic, antiinflammatory, antidiuretic and other pharmacological activities. The purpose of this study was to determine the beluntas leaves extract which has the highest antioxidant activity and identify the classes of active compounds contained in the extract.

Active compound of beluntas leaves extraction was carried out by maceration method using methanol as a solvent. Then the concentrated methanol extract is hydrolyzed with HCl 2N and neutralized with NaHCO₃. The hydroxylate is extracted using liquid-liquid a solvent variation: water, ethyl acetate, and n-hexane. The antioxidant activity test used *1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl* method with various concentrations. Identification of compound groups is done with addition of reagents and characterization using UV-Vis and FT-IR spectrophotometers. Compound groups are observed qualitatively and then separated using analytical thin-layer chromatography.

The results of the antioxidant activity test of the water fraction, n-hexane fraction, and methanol extract from hydrolysis of beluntas leaves were 9,02; 15,64; and 1,52 ppm. The highest antioxidant activity of beluntas leaves is the ethyl acetate fraction with an EC₅₀ value of 0,39 ppm. Phytochemical identification of the ethyl acetate fraction showed the presence of steroid compounds, terpenoids, flavonoids, saponins, tannins, and ascorbic acid, the results of identification using FT-IR showed the absorption of functional groups -CH₃, -CH₂, C=C, C=O dan C-O.

مستخلص البحث

مخروسة سافيرا. ٢٠٢١. اختبار تحديد النشاط المضاد للأكسدة للماء ، وخلات الإيثيل ، وأجزاء الهكسان من مستخلص الميثانول المتحلل بالماء لأوراق (*Pluchea indica L.*) Beluntas. البحث العلمي. . قسم الكيمياء بكلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: أ. غنائيم فاشي الماجستير . المشرف الثاني: لؤلؤة حميدة عليا الماجستير .

كلمة الأساسية : مستخلص الإيثانول المضاد للأكسدة من أوراق بلونتاس (DPPH).

بلونتاس (*Pluchea indica L.*) هو نباتات التحوط التي تنمو برية عادة كأعشاب تقليدية أو تؤكل كخضروات. توجد مركبات نشطة في أوراق البيلونتاس تعمل كمضادات للأكسدة ومضادة للبكتيريا وخافضة للحرارة ومضادة للالتهابات ومضادة لإدرار البول وأنشطة دوائية أخرى. هدف هذا البحث هو معرفة مستخلص أوراق البيلونتاس الذي يحتوي على أعلى نشاط مضاد للأكسدة وتحديد مجموعة المركبات الفعالة الموجودة في المستخلص.

تم استخلاص المركبات الفعالة من أوراق البيلونتاس بطريقة النقع باستخدام الميثانول كمذيب. تم بعد ذلك تحلل مستخلص الميثانول المركز باستخدام 2 N HCl ومعادلته باستخدام NaHCO_3 ، وتم استخلاص الهيدروجيل في استخلاص سائل-متدرج باستخدام مجموعة متنوعة من المذيبات ، وهي الماء ، وخلات الإيثيل ، و n -هكسان. ثم اختبار نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH بتركيزات مختلفة. تم تحديد المركبات على المستخلص بإضافة الكواشف والتوصيف باستخدام مقياس الطيف الضوئي FT-IR الذي لوحظ نوعياً ثم فصله بمجموعة من المركبات باستخدام KLTA.

كانت نتائج اختبار النشاط المضاد للأكسدة لجزء الماء وجزء هكسان ومستخلص الميثانول من التحلل المائي لأوراق البلونتاس ٩٠٠٢ ، ١٥٠٦٤ ، و ١٥٠٢ جزء في المليون. أعلى نشاط مضاد للأكسدة لأوراق البلونتاس هو جزء أسيتات الإيثيل بقيمة EC ٥٠٣٩ جزء في المليون. أظهر التعرف الكيميائي النباتي لجزء أسيتات الإيثيل وجود مركبات الستيرويد ، التربينويدات ، الفلافونويد ، الصابونين ، التانينات ، وحمض الأسكوربيك ، وأظهرت نتائج التحديد باستخدام FT-IR امتصاص المجموعات الوظيفية $\text{C}=\text{O}$ ، $\text{C}=\text{C}$ ، $-\text{CH}_2$ ، $-\text{CH}_3$ ، و $\text{C}-\text{O}$.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pluchea indica L. termasuk famili Asteraceae merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dapat dibudidayakan, karena bernilai tinggi bagi masyarakat dalam hal manfaat dan kegunaannya sebagai tanaman obat. Keanekaragaman hayati di alam semesta ini dan segala khasiat yang terkandung merupakan suatu bukti kekuasaan Allah Swt., sebagaimana firman Allah Swt. dalam Al-Qur'an surat asy Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (الشعراء : ٧)

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”

Ayat tersebut menjelaskan kekuasaan dan anugerah-Nya yang tak terhingga dengan menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan baik dan membawa banyak sekali manfaat bagi manusia. Kata *إِلَى* dari ayat tersebut mengandung makna *batas akhir* yang berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir. Hal ini memberikan kesadaran kepada manusia untuk mengarahkan pengamatan hingga batas kemampuannya, dengan melihat potensi dari aneka mukjizat yang terhampar pada tumbuh-tumbuhan. Kata *زَوْجٍ* yang artinya *pasangan* atau *jenis* yang dimaksudkan pada ayat ini adalah tumbuh-tumbuhan, karena tumbuh-tumbuhan terbentang diluasnya tanah yang ada di bumi, dengan demikian ayat ini menunjukkan bahwa tumbuh-tumbuhan juga memiliki pasangan

(benang sari dan putik) guna perkembangan dan pertumbuhannya. Kata كَرِيم menjelaskan bahwa Allah Swt. menciptakan suatu hal dengan bijaksana, dengan cara yang paling baik, sesuai dan bermanfaat bagi hamba yang menerimanya. Tumbuhan yang baik bagi kemaslahatan umat manusia, misalnya dimanfaatkan sebagai obat dan pangan (Al Qurtubi, 2008).

Secara tradisional daun beluntas digunakan sebagai sayuran dengan cara dilalap atau dimasak yaitu bagian daun muda, pucuk maupun bunga sebagai jamu penghilang bau badan, penambah nafsu makan, gangguan pencernaan pada anak-anak, obat diare dan nyeri reumatik atau sakit pinggang, TBC, demam (Raharjo dan Horsten, 2002), hingga tonik saraf, mengatasi keputihan dan haid yang tidak teratur (Nurhalimah, dkk. 2015). Teh herbal *Pluchea indica* L. telah dikomersialkan di Thailand sebagai minuman untuk meningkatkan kesehatan (Chewchinda dan Vongsak, 2018). Hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa fitokimia dalam daun beluntas (Halim, 2015).

Penelitian sebelumnya menginformasikan bahwa daun beluntas mengandung sejumlah senyawa fitokimia seperti lignan, terpen, fenilpropanoid, benzoid, alkana (Luger, dkk., 2000), stigmasterol ($+\beta$ -sitosterol), stigmasterol glikosida ($+\beta$ sitosterolglikosida), 2-(prop-1-unil)-5-(5,6 dihidroksi heksa-1,3-diunil)- thiofena, (-)-katekin (Biswas, dkk., 2005), fenol hidrokuinon, saponin, tanin, dan alkaloid (Ardiansyah, dkk., 2003), flavonol (kuersetin, kaemferol, mirisetin, luteolin, apigenin) (Andarwulan, dkk., 2010), β -karoten, asam klorogenat, asam kafeat dan kuersetin (Suriyaphan, 2014). Kandungan senyawa dalam daun beluntas memiliki beberapa aktivitas biologis yaitu sebagai

antimalaria (Pratama, dkk., 2017), antiinflamasi, antipiretik, hipoglikemik, diuretik dan berbagai aktivitas farmakologi (Widyawati, dkk., 2012).

Senyawaan fitokimia pada tanaman dapat diekstrak dengan pelarut yang sesuai. Tingkat kepolaran pelarut menentukan komponen senyawaan fitokimia yang terekstrak. Pada umumnya senyawa fitokimia, terutama fenolik yang terdapat dalam sel tanaman berbentuk bebas atau glikosida (Dehkharghanian, dkk., 2010). Adanya gugus hidroksil pada senyawa fenolik menyebabkan senyawa ini bersifat polar yang dapat terekstrak oleh pelarut polar (Lai, dkk., 2009). Etanol dan metanol secara efektif dapat mengekstrak senyawa polar, seperti gula, asam amino, dan glikosida (Houghton dan Raman, 1998), fenolik dengan berat molekul rendah dan tingkat kepolaran sedang (Yu Lin, dkk. 2009), flavonoid aglikon (Dehkharghanian, dkk., 2010), antosianin, terpenoid, saponin, tanin, santosilin, totarol, kuasinoid, lakton, flavon, fenon, dan polifenol (Cowan, 1999). Air dapat mengekstrak senyawa sangat polar, seperti glikosida, asam amino, dan gula (Houghton dan Raman, 1998), aglikon (Liu, dkk., 2011), antosianin, pati, tanin, saponin, terpenoid, polipeptida, lektin (Cowan, 1999). Etil asetat dilaporkan dapat mengekstrak senyawa alkaloid, aglikon, dan glikosida (Houghton dan Raman, 1998), sterol, terpenoid, dan flavonoid (Cowan, 1999). Sedangkan n-heksana untuk memisahkan senyawa-senyawa nonpolar seperti klorofil, triterpen, lemak dan senyawa nonpolar lain (Koirewoa, dkk., 2012).

Auliawan dan Cahyono (2014) telah melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa total fenolat hasil hidrolisis lebih besar dibandingkan dengan sebelum hidrolisis yaitu sebesar 180,37 mg GAE/g daripada 156,38 mg GAE/g. Proses hidrolisis ini diduga dapat mengubah bentuk glikosida menjadi bentuk

aglikon (Senyawa fenolat bebas) sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan. Glikosida flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan bentuk aglikonnya (Irianti, dkk., 2016). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat. Antioksidan terdapat dalam beberapa bentuk, di antaranya vitamin, mineral, dan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan (Andarwulan, dkk., 2008)

Penelitian Andarwulan (2010) menguji kandungan flavonoid dan antioksidan sayuran dari Indonesia menghasilkan ekstrak *Pluchea indica* L. dan *Cosmos caudatus* Kunth menghambat oksidasi asam linoleat terbesar dan memiliki nilai tertinggi pada uji DPPH, ABTS, dan kapasitas antioksidan sianida besi yang relatif daripada sayuran lainnya. Pada saat ini, banyak penggunaan bahan alam yang digunakan kembali oleh masyarakat dalam hal membiasakan hidup dengan menghindari bahan kimia sintesis. Terdapat banyak pengobatan yang menggunakan bahan alam sebagai penyelesaian mengatasi suatu penyakit (Koirewoa., dkk., 2012). Penggunaan senyawa antioksidan berkembang dengan pesat baik untuk makanan maupun pengobatan. Antioksidan digolongkan menjadi 2 jenis yakni antioksidan sintetik dan alami. Senyawa antioksidan sintetik yang cukup dikenal adalah Butylated Hydroxy Toluena (BHT) dan Butylate Hydroxy Anisole (BHA) yang banyak dimanfaatkan dalam industri makanan dan minuman. Pada antioksidan sintetik selain harganya yang tidak murah juga mempunyai efek samping yang tidak diinginkan yaitu bersifat karsinogenik dan dapat menimbulkan kerusakan hati (Heo, dkk., 2005), oleh sebab itu pemanfaatan

dan pengembangan antioksidan alami sangat penting dilakukan untuk mendapatkan antioksidan yang lebih aman digunakan, sehingga permintaan terhadap antioksidan alami terus mengalami peningkatan.

Menurut Sunarni (2005) menyatakan bahwa antioksidan alami dapat digunakan untuk melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan oleh oksigen reaktif, menghambat terjadinya penyakit dan mampu menghambat peroksidasi lipid. Jika dibandingkan dengan antioksidan sintetis, antioksidan alami umumnya lebih aman untuk dikonsumsi dan dapat meningkatkan derajat kesehatan tubuh. Penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Paini, dkk., (2012) membandingkan antioksidan sintetis dan alami, sehingga mendapatkan hasil nilai IC_{50} dari BHT sebesar 5,7 mg/L, pada fraksi etil asetat dan ekstrak metanol yang berpotensi sebagai antioksidan sangat kuat karena nilai IC_{50} dari kedua sampel tersebut sebesar 3,3 mg/L dan 4,3 mg/L. Sehingga sampel tersebut berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan.

Berdasarkan penjelasan di atas, maka penting untuk dilakukan suatu penelitian mengenai ekstrak daun beluntas yang diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol, kemudian dipartisi dengan variasi pelarut yaitu n-heksana, etil asetat, dan air. Hasil hidrolisis ekstrak dan fraksi tersebut diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan diuji fitokimia, KLTA, dan analisis dugaan senyawa aktif menggunakan spektrofotometer FT-IR.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana aktivitas antioksidan senyawa aktif fraksi air, etil asetat, dan n-heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol daun beluntas dengan metode DPPH?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak dengan nilai EC_{50} terendah dari *Pluchea indica* L. menggunakan uji fitokimia, KLTA dan FT-IR?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan senyawa aktif fraksi air, etil asetat, dan n-heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol *Pluchea Indica* dengan metode DPPH.
2. Untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak dengan nilai EC_{50} terendah dari *Pluchea indica* L. menggunakan uji fitokimia, KLTA dan FT-IR.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah daun beluntas yang diperoleh dari Kedungkandang Malang.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi, hidrolisis, dan ekstraksi cair-cair (partisi).

3. Pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat, air dan n-heksana.
4. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan.
5. Golongan senyawa yang diidentifikasi meliputi steroid, terpenoid, flavonoid, alkaloid, asam askorbat, saponin, tanin.
6. Uji senyawa aktif menggunakan KLTA (Kromatografi Lapis Tipis Analitik)
7. Identifikasi senyawa aktif menggunakan spektrofotometer FT-IR.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat atau kalangan akademik mengenai manfaat daun beluntas. bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan. Dengan adanya penelitian ini dapat menjadi referensi atau pembandingan untuk membantu pengembangan penelitian selanjutnya dalam memanfaatkan daun beluntas pada berbagai aplikasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Beluntas

Beluntas (*Pluchea Indica* L.) termasuk famili Asteraceae. Asteraceae merupakan famili yang sangat besar dengan memiliki sekitar 1.600- 1.700 genus dan 24.000-30.000 species (Ruan *et al.*, 2018). Genus *Pluchea* merupakan salah satu genus dalam famili *Asteraceae* dengan sekitar 40 spesies (Raharjo dan Horsten, 2002) - 90 species, yang terdistribusi terutama di Amerika Utara dan Selatan, Afrika, Asia, dan Australia (Ahemd dan Kamel, 2013). Beluntas merupakan tumbuhan yang tersebar luas di Asia terutama di Malaysia (Noridayu, dkk., 2011), Indonesia, Vietnam, Cina, hingga ke Inggris yang berasal dari India (Khodaria, 2013).

Klasifikasi tumbuhan beluntas *Pluchea Indica* L. menurut Dalimartha (1999) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae
Marga	: <i>Pluchea</i>
Spesies	: <i>Pluchea Indica</i> L.



Gambar 2.1 Daun beluntas (*Pluchea Indica* L.) (Mursalim, 2017)

Tanaman beluntas merupakan salah satu tumbuhan tingkat tinggi yang dapat dibedakan antara daun, batang, bunga, buah dan akarnya. Berdasarkan gambar 2.1 tanaman beluntas memiliki daun berbentuk oval elips atau bulat telur terbalik, tepi daunnya bergigi dengan ujung daun runcing, berwarna hijau muda dan berambut. Daun beluntas berupa daun tunggal dengan letak berseling dan bertangkai pendek atau subsesil dan tidak memiliki stipula dengan ukuran 2,5-9 cm x 1-5,5 cm, kelenjar tidak jelas pada kedua permukaan daun, dan mengeluarkan bau harum ketika diremas atau direbus. Tanaman beluntas merupakan tanaman semak, tumbuh tegak dengan tinggi 0,5-2 m, ramping dan memiliki banyak cabang-cabang. Cabang berbentuk silindris dan berkayu, berwarna coklat tua dan warna hijau dibagian ujung yang tidak memiliki rambut-rambut atau halus (Dalimartha, 1999; dan Silalahi, 2019).

2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif

Pemisahan senyawa kimia dari sumber tanaman merupakan proses awal isolasi senyawa bioaktif yang berada pada tumbuhan, baik pada akar, batang, biji ataupun daun (Sidik, 1997). Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan dengan pelarut tertentu. Ekstraksi bertujuan untuk memperoleh zat senyawa kimia yang larut pada pelarut. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Hal yang perlu dilakukan dalam proses ekstraksi pada umumnya adalah membunuh jaringan tumbuhan untuk mencegah terjadinya oksidasi dan hidrolisis oleh enzim. (Kristanti, 2008; Kiswandono, 2011; dan Ali, dkk., 2013).

Ekstraksi simplisia dapat dilakukan dengan berbagai metode ekstraksi baik secara panas maupun cara dingin. Penelitian Safitri, dkk., (2018) melaporkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak metanol daun beluntas memiliki sifat termolabil sehingga memungkinkan senyawa flavonoid yang tersebut rusak ketika proses pemanasan. Maserasi merupakan metode yang dilakukan dengan merendam serbuk tanaman yang telah dihaluskan dengan ukuran kehalusan dan pelarut yang sesuai pada wadah inert yang tertutup rapat dalam jangka waktu tertentu tanpa menggunakan pemanasan atau pada temperatur ruang (Mukhiarini, 2014). Proses ekstraksi terjadi beberapa kali hingga tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi senyawa dalam sel tanaman kemudian pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan dan ekstrak diuapkan dengan menggunakan penguap vakum (Markham, 1998).

Maserasi merupakan metode yang sederhana karena tidak memerlukan peralatan yang rumit, relatif murah, dan dapat menghindari rusaknya komponen senyawa yang mudah menguap karena adanya pemanasan (Kiswando, 2015). Metode ini berlangsung lama dan membutuhkan pelarut organik cukup banyak yang dapat melarutkan senyawa yang akan diisolasi dengan baik. Ekstraksi daun beluntas dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam telah dilakukan oleh Sulastry dan Kurniawati (2010) yang bertujuan untuk melarutkan semua senyawa aktif baik yang bersifat polar dan non polar. Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat polaritas pelarut yang ditentukan oleh konstanta dielektrikum. Konstanta dielektrik beberapa pelarut ditunjukkan pada tabel 2.1 (Sax dan Lewis, 1998).

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Heksana	1,9	TL	68,7
Petroleum eter	2,28	TL	60
Benzena	2,38	TL	80,1
Toluena	4,81	TL	111
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Metil asetat	6,68	S	57
Metil klorida	9,08	S	39,75
Butanol	15,80	S	117,2
Propanol	20,1	L	97,22
Aseton	20,70	L	56,2
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi
 Sumber: Sax (1998), HAM (2006), Fessenden dan Fessenden (1997).

Pemilihan pelarut perlu dipertimbangkan karena pelarut merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi keberhasilan proses ekstraksi (Simanjuntak, 1988). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai dengan senyawa target, mengekstrak senyawa fenolik dengan berat molekul rendah dan tingkat kepolaran sedang menggunakan pelarut metanol cukup efektif sehingga dihasilkan rendemen dan aktivitas antioksidan yang tinggi dari daun spesies *Etilingera* (Chan, dkk., 2007). Metanol memiliki titik didih yang cukup rendah berada pada 64,7 °C (Anozie dan Bakare, 2004), sehingga pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, bersifat inert, serta memiliki harga yang terjangkau.

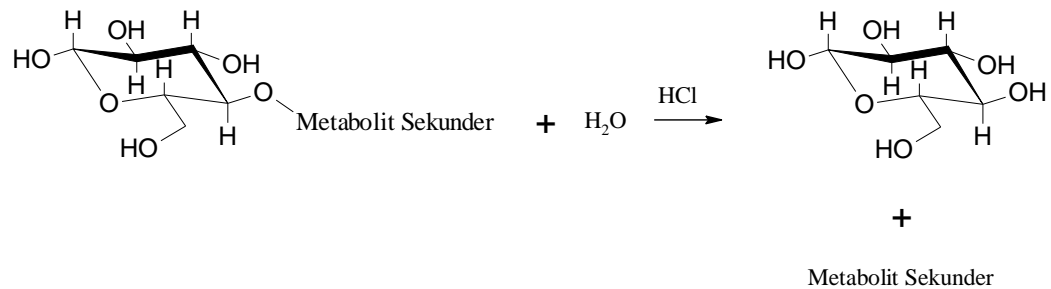
2.3 Hidrolisis Glikosida

Hidrolisis merupakan reaksi pemecahan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan air (Yusrin dan Mukaromah,

2010). Reaksi hidrolisis dilakukan untuk membebaskan aglikon pada senyawa organik yang berbentuk glikosida. Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari bagian bukan gula (aglikon) yang bersifat polar, semipolar maupun non polar dan bagian gula yang bersifat polar pada senyawa metabolit sekunder (Gunawan, dkk., 2004). Ikatan glikosida yang menghubungkan glikon dan aglikon ini sangat mudah terurai oleh pengaruh asam, basa, enzim, air, dan panas (Rahayu dan Hastuti, 2009). Banyaknya ikatan glikosida menyebabkan senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar sehingga pada proses pemisahan menggunakan KLT, senyawa yang bekerja kurang spesifik karena terikat dengan gugus gula akan lebih tertahan pada fasa diamnya (Saifudin, dkk., 2006).

Katalis dibutuhkan untuk mempercepat reaksi dalam proses hidrolisis karena dengan bantuan air saja, reaksi berjalan dengan lambat. Asam kuat seperti asam klorida (HCl) biasa digunakan sebagai katalis. Pemilihan asam kuat sebagai katalis disebabkan karena asam kuat lebih mudah melepas proton (H^+) secara sempurna di dalam air, sedangkan asam lemah cenderung lebih sukar sehingga terionisasi sebagian dalam pelepasan ion (H^+). Semakin banyak proton yang terionisasi di dalam air maka semakin kuat peranan proton dalam pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006). Aglikon terhidrolisis asam dan basa mempunyai perbedaan, aglikon terhidrolisis asam mengandung lebih banyak gugus hidroksi dan pada aglikon terhidrolisis basa mengandung gugus asil. Semakin banyak gugus hidroksil akan meningkatkan aktivitas antioksidannya, sedangkan adanya gugus asil dapat menurunkan aktivitas antioksidannya karena strukturnya semakin sterik sehingga akan semakin sulit radikal DPPH mendekati

gugus hidroksil flavonoid (Dugas, dkk., 2000). Reaksi pemutusan ikatan glikosida dengan HCl dan penetralan membentuk garam adalah:



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Mardiyah, 2012)



Gambar 2.3 Reaksi antara asam klorida dan natrium bikarbonat (Mardiyah, 2012)

2.4 Partisi (Ekstraksi Cair-Cair)

Ekstraksi cair-cair atau yang dikenal dengan ekstraksi pelarut merupakan proses pemisahan fasa cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan senyawa target dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur sehingga akan terbentuk dua fase yang berbeda, yakni sebagian komponen larut pada fasa pertama dan sebagian larut pada fasa kedua yang disebabkan oleh adanya gaya dorong (*driving force*) yang muncul akibat perbedaan potensial kimia antara kedua pelarut (Mirwan, 2013). Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan komponen yang diekstraksi dan harus terpisah setelah pengocokan (Harvey, 2000). Kelebihan dari pemisahan dengan metode ini adalah mudah, sederhana, dan berlangsung cepat sehingga dapat memperoleh senyawa aktif yang lebih spesifik.

Pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi dilaporkan memiliki pengaruh pada sifat dan jumlah metabolit sekunder yang diekstraksi dari tanaman obat. Misalnya, pelarut polar digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolik,

glikosida, saponin, dan pelarut non-polarnya digunakan untuk ekstraksi asam lemak dan steroid. (Ngo, dkk., 2017). Sifat pelarut juga akan mempengaruhi isi metabolit sekunder dari ekstrak yang diperoleh oleh metode ekstraksi lanjutan. Dengan demikian, pilihan pelarut ekstraksi yang tepat dan teknik ekstraksi diperlukan untuk aktivitas farmakologis yang diinginkan dari ekstrak ini (Dirar, dkk., 2018).

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Katrin dan Bendra, 2015). Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas. Antioksidan termasuk senyawa pendonor elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga aktivitas radikal tersebut dapat terhambat. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul yang rendah, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi cara mencegah terbentuknya radikal sehingga antioksidan bertindak sebagai agen pereduksi (Winarsi, 2007).

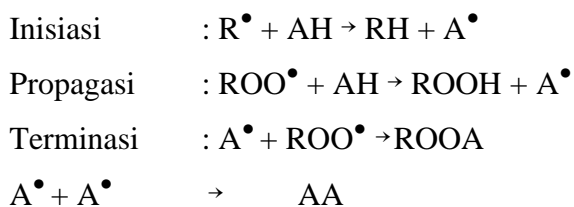
Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat berupa antioksidan alami dan antioksidan sintetis (buatan). Antioksidan sintetis banyak digunakan dalam campuran produk makanan. Senyawa ini dapat berasal dari derivat antioksidan alami (misalnya analog alfa tokoferol), antioksidan golongan fenol (misalnya butil hidroksi anisol dan butil hidroksi toluen), dan senyawa yang mengandung gugus sulfhidril (misalnya thiazolidin, ebselen, dan dithiolethion) (Cadenas, 1997; dan Cacic, dkk., 2010). Antioksidan alami ditemukan di hampir semua tanaman,

mikroorganisme, jamur, dan bahkan dalam jaringan hewan (Pokorny, 2001). Tanaman seperti biji-bijian, buah, dan sayur-sayuran merupakan bahan pangan yang menjadi sumber antioksidan alami karena mempunyai manfaat bagi kesehatan (Nafisah dan Tukiran, 2017). Mayoritas antioksidan alami adalah senyawa fenolik, dan kelompok antioksidan alami yang paling penting adalah tokoferol, flavonoid, asam fenolik (Cuppett, dkk., 1997) polifenol, β -karoten, vitamin C, dan vitamin E (Hernani, 2005).

Ingold (1968) mengklasifikasikan semua antioksidan berdasarkan mekanisme kerjanya menjadi dua kelompok, yaitu primer atau antioksidan pemecah rantai dan antioksidan sekunder atau preventif. Antioksidan primer paling sering bertindak dengan menyumbangkan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid (R^\bullet , ROO^\bullet) (Schwarz, dkk., 2001). Antioksidan sekunder atau preventif dapat mengurangi laju oksidasi lipid dengan berbagai mekanisme pemutusan rantai oksidasi diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi (Gordon, 1990; Decker, dkk., 2005). Antioksidan sekunder bereaksi dengan hidroperoksida untuk menghasilkan produk non-radikal dan non-reaktif (Schwarz, dkk., 2001).

Antioksidan primer dapat menerima radikal bebas dan lebih lanjut menunda inisiasi atau mengganggu langkah propagasi autooksidasi (Reische, dkk., 1998). Antioksidan primer dapat bereaksi dengan radikal lipid dan peroksil mengubahnya menjadi produk radikal yang lebih stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru seperti reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida (Gordon, 1990), pemusnahan atau perubahan senyawa radikal menjadi non-radikal

merupakan tahap terakhir yang disebut terminasi. Deretan reaksi tersebut dapat berlangsung seperti berikut (Mark, 2013):



Gambar 2.4 Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal bebas

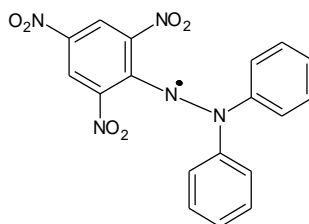
Radikal antioksidan (A^\bullet) yang dihasilkan oleh proses ini jauh lebih sedikit reaktif daripada lipid atau radikal peroksil. Radikal antioksidan ini pada kenyataannya dapat terhambat apabila reaksi oksidasi lipid bereaksi dengan radikal peroksil, radikal alkoksil dan antioksidan lainnya dengan membentuk produk non-radikal (McClements dan Decker, 2000). Penambahan antioksidan dalam konsentrasi rendah yang berasal dari penginterfensian rantai propagasi atau inisiasi dapat menghambat autooksidasi (Hamilton dan Allen, 1994).

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan non enzimatis pada tanaman dan bahan pangan umumnya menggunakan beberapa metode berbasis air seperti 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) (reaksi dengan radikal bebas), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) (reaksi reduksi-oksidasi), *Ferrous Ion Chelating* (FIC) (reaksi kelat atau melalui pembentukan kompleks), dan yang berbasis lemak misalnya dengan *Thiobarbituric acid* (TBA) (Thaipong, dkk., 2006; Pokorny 2001). Beberapa macam metode uji aktivitas antioksidan tersebut dapat memberikan hasil uji yang beragam, hal tersebut disebabkan adanya pengaruh dari

struktur kimiawi antioksidan, sumber radikal bebas dan sifat fisiko-kimia sediaan sampel yang berbeda. Oleh karena itu, pemilihan metode uji aktivitas antioksidan yang tepat dan selektif sangat diperlukan menyesuaikan suatu jenis sampel tertentu (Maesaroh, dkk., 2018).

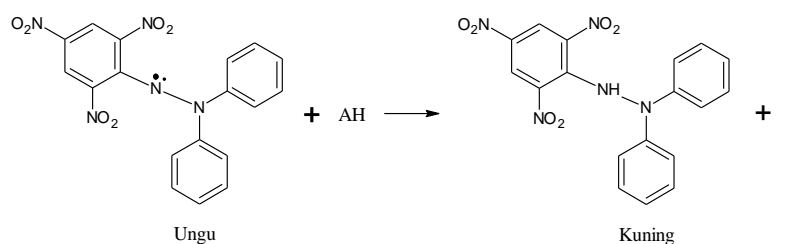
Salah satu metode uji yang sering digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil*). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. (Marxen, dkk., 2007). Metode DPPH digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Sedangkan beberapa metode lain mempunyai kemampuan yang terbatas untuk mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisa (Prakash, dkk., 2001).



Gambar 2.5 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Dinasti, 2016)

Metode DPPH sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena mudah, cepat, sederhana, peka dan memerlukan sedikit sampel. Metode ini hanya memerlukan senyawa DPPH dan senyawa pembanding seperti vitamin A, vitamin C, dan vitamin E. Selain itu, metode ini tidak memerlukan substrat karena radikal bebas sudah tersedia secara langsung untuk mengganti substrat (Julizan,

dkk., 2019). Metode DPPH didasarkan pada reduksi radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu diberikan proton dari antioksidan menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Prayoga, 2013). Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu, dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm. Perubahan warna tersebut disebabkan berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya penangkapan satu elektron oleh zat antiradikal yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Asih, dkk., 2012).



Gambar 2.6 Reaksi antara DPPH dengan atom H yang berasal dari antioksidan (Tristantini, 2016)

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan persamaan 2.1 (Tistantini, dkk., 2016).

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

Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok

larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran saat itu. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2003).

Nilai 0 % berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100 % berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50 % (Parwata, dkk., 2009). Parameter EC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50 % yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil EC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman dan Riyanto, 2005). Secara spesifik ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Ketentuan kekuatan antioksidan (Jun, dkk., 2006)

Nilai EC_{50}	Kekuatan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 – 150 ppm	Sedang
150 – 200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat lemah

Penelitian yang dilakukan oleh Noridayu, dkk., (2011) menunjukkan EC_{50} terendah pada ekstrak mtanol daun beluntas sehingga aktivitas antioksidan tergolong sangat kuat dengan $EC_{50} = 24,45 \pm 0,38 \mu\text{g} / \text{ml}$. Namun, nilai ini lebih rendah dari standar antioksidan, kuersetin dengan EC_{50} sebesar $6,70 \pm 0,79 \mu\text{g} / \text{ml}$. penangkapan radikal bebas ditunjukkan oleh ekstrak metanol batang tanaman

beluntas dengan $EC_{50} = 83,74 \pm 0,90 \mu\text{g} / \text{ml}$. Kedua ekstrak heksana dari daun dan batang menunjukkan aktivitas antioksidan yang lemah dengan EC_{50} berturut turut sebesar $391,59 \pm 0,59$ dan $401,68 \pm 0,84$. hasil tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol lebih kuat dibandingkan ekstrak non-polar.

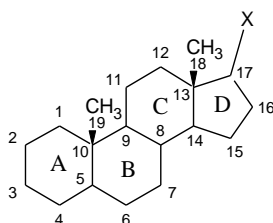
2.7 Identifikasi Senyawa Aktif

Senyawa fitokimia secara alami terdapat pada tanaman, dedaunan, sayuran serta akar sebagai bentuk perlindungan dan pertahanan diri dari berbagai penyakit. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan dari proses metabolisme senyawa metabolit primer, biasanya digunakan sebagai pertahanan diri dari kolonisasi mikroorganisme patogenik dan serangan dari hewan-hewan predator (Harper, dkk., 2001). Senyawa metabolit sekunder yang umum terdapat pada tanaman adalah alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, terpenoid, dan tanin (Harborne, 1987).

2.7.1 Steroid

Senyawa steroid merupakan derivat lipid yang tidak terhidrolisis (Illing, dkk., 2017). Turunan senyawa steroid yang banyak keberadaannya adalah sterol (Poedjiadi, 2012). Senyawa steroid yang terkandung dalam tumbuhan disebut dengan fitosterol (Vembrianto, 2013). Sterol atau steroid merupakan triterpen yang memiliki cincin sikiopentana perhidro fenantrena sebagai kerangka dasarnya atau mempunyai empat cincin terpadu (Illing, dkk., 2017), yang terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentena. Pengelompokan senyawanya berdasarkan gugus yang terikat pada kerangka dasar rantai karbon (Kristanti, 2008). Secara sederhana steroid dapat diartikan sebagai kelas senyawa organik

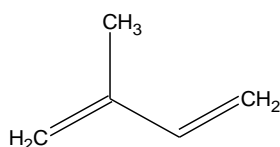
bahan alam yang kerangka strukturnya terdiri dari androstan (Tobing, 1989). Struktur senyawanya cukup beragam, perbedaan tersebut disebabkan karena adanya gugus fungsi teroksidasi yang terikat pada cincin dan terjadinya oksidasi cincin karbonya (Samejo dkk., 2013).



Gambar 2.7 Struktur dasar steroid (Pozo, dkk., 2008)

2.7.2 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dibangun oleh dua atau lebih unit atom C_5 yang disebut unit isopren (2-metil-1,3-butadiena). Unit-unit isopren tersebut saling berikatan secara teratur dalam molekul, di mana “ekor” dari unit yang satu berikatan dengan “kepala” dari unit yang lain, kepala adalah merupakan ujung terdekat kecabang metil dan ekor merupakan ujung yang lain. Keteraturan mengenai struktur terpenoid disebut kaidah isopren (Achmad, 1986; dan Harborne, 1987). Senyawa terpenoid dapat diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit isoprene penyusunnya, hal tersebut yang menyebabkan keberagaman senyawa terpenoid (Tobing, 1989).



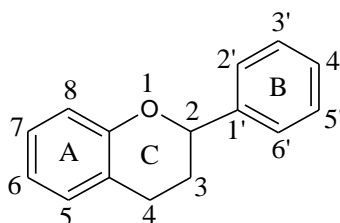
Gambar 2.8 Unit Isopren (Harborne, 1987)

Terpenoid merupakan senyawa yang hanya mengandung atom karbon dan hidrogen, oksigen, sebagian besar terpenoid mengandung atom karbon yang jumlahnya kelipatan lima. Kebanyakan terpenoid alam mempunyai struktur siklik

dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih (Harborne, 1987). Pada umumnya, terpenoid dapat larut dalam lipid, mudah menguap, bersifat aromatis, dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan.

2.7.2 Flavonoid

Flavonoid termasuk dalam polifenol yang terkandung secara alami pada tanaman hijau (Zuvela, dkk., 2019). Adanya gugus hidroksil atau gula pada struktur flavonoid menyebabkan lebih mudah larut dalam air. Sebaliknya aglikon yang kurang polar seperti flavon, isoflavon, flavanol, flavanon yang termetoksilase cenderung lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti, eter dan kloroform (Markham, 1988). Aglikon flavonoid dalam tumbuhan terdapat dalam berbagai bentuk struktur yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, tersusun dalam konfigurasi $C_6 - C_3 - C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Brodowska, 2017). Berikut kerangka dasar senyawa aktif flavonoid:



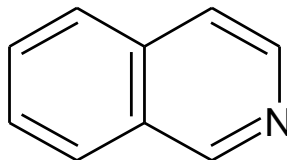
Gambar 2.9 Struktur kerangka dasar flavonoid (Panche, dkk., 2016)

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki peran atas pigmen warna pada buah, bunga, dan kadang-kadang daun, flavonoid juga melindungi tanaman dari bahaya sinar UV serta berperan dalam menarik hewan yang akan membantu dalam proses penyerbukan tanaman (De Padua, dkk., 1999). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, dapat menghambat banyak reaksi

oksidasi, baik secara enzimatik maupun non enzimatik, dengan demikian melindungi membran terhadap reaksi yang merusak sel (Sjahid, 2008).

2.7.3 Alkaloid

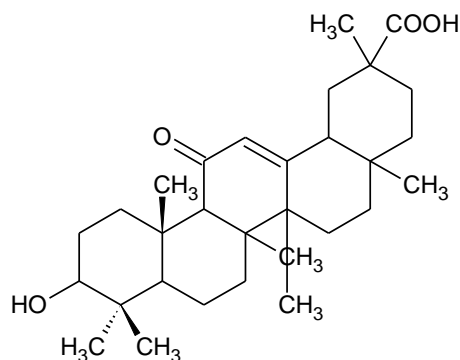
Sebagian besar alkaloid mengandung nitrogen dalam struktur molekulnya. Senyawa-senyawa itu biasanya kristal tidak berwarna pada kondisi sekitar. Alkaloid bebas oksigen, seperti, nikotin atau coniine, biasanya mudah menguap, tidak berwarna, cairan berminyak. Sebagian besar alkaloid adalah basa lemah, tetapi beberapa, seperti bromin dan teofilin, bersifat amfoter. (Babbar, 2015). Beberapa sifat fisika dan kimia alkaloid adalah bersifat optis aktif yang ditandai dengan adanya atom karbon asimetri atau kiral didalam senyawa organik, diisolasi dalam bentuk kristal tidak larut, dapat berbentuk amorf dan atau cairan, dan umumnya heterosiklik (Robinson, 1995; Hammad dan Illing, 2013).



Gambar 2.10 Kerangka dasar alkaloid isokuinolin (Silalahi, dkk., 2018)

2.7.4 Saponin

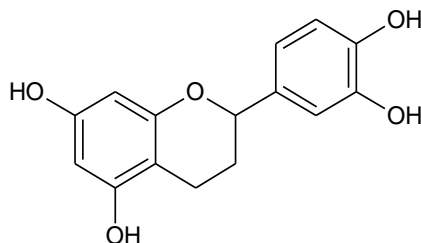
Saponin berasal dari bahasa Latin, *sapo* yang berarti sabun, merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Busa yang terbentuk adalah hasil dari pembentukan larutan koloid (Burrell dan Walter, 1934). Saponin adalah kelompok metabolit sekunder, tidak mudah menguap, surfaktan yang tersebar secara luas pada tumbuhan tingkat tinggi serta beberapa hewan laut dan merupakan kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya (Addisu and Assefa, 2016).



Gambar 2.11 Struktur senyawa saponin (Illing, dkk., 2017)

2.7.6 Tanin

Tanin secara umum diklasifikasikan dalam dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Kedua jenis tanin ini terdapat dalam tumbuhan, tetapi yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi (Kraus, dkk., 2003). Menurut Susanti (2000), sifat utama tanin pada tanaman tergantung pada gugus fenolik-OH yang terkandung dalam tannin.



Gambar 2.12 Struktur senyawa tanin (Robinson, 1995)

Senyawa tanin termasuk golongan senyawa flavonoid, berdasarkan strukturnya memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon (Hayati, dkk., 2010). Tanin bersifat koloid, larut dalam air terutama pada air panas. Tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin amorf dan tidak mempunyai titik leleh. Warna tanin akan berubah menjadi gelap apabila terkena sinar matahari pada udara terbuka (Susanti, 2000).

2.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Kromatografi berasal dari istilah latin gabungan kata “*chroma*” yang berarti warna dan “*graphein*” yang berarti menuliskan. Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan perambatan komponen dalam medium tertentu yaitu fasa diam dan fasa gerak yang berbeda tingkat kepolarannya berdasarkan sifat fisik komponen yang akan dipisahkan. Komponen yang berinteraksi secara lemah dengan fasa diam maka komponen tersebut akan bergerak cepat meninggalkan fasa diam, begitupun sebaliknya. Interaksi antara komponen-komponen campuran dengan fasa diam dan fasa gerak menjadi faktor keberhasilan pemisahan menggunakan kromatografi (Hendayana, 2006).

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah jenis kromatografi cair di mana fase geraknya berupa cairan dan fasa diamnya adalah material berlapis tipis di atas plat datar. Lapisan material ini dikenal sebagai sorben. Fase gerak dikenal sebagai pelarut pengembang, dan mengangkut zat terlarut melalui tahapan yang tidak berubah. Kecepatan dimana zat terlarut bergerak melalui fase diam tergantung pada kekuatan fase gerak karena melarutkan zat terlarut dan bergerak ke atas kaca, dan resistensi sorben sebagai penarik zat terlarut keluar dan kembali ke sorben, Oleh karena itu, senyawa dengan sifat yang berbeda dapat dipisahkan satu sama lain dengan memanfaatkan interaksi beragam zat terlarut dengan sorben dan fase gerak (Santiago dan Strobel, 2013).

Pemilihan adsorben, dapat dipertimbangkan melalui sifat-sifat senyawa yang dipisahkan meliputi kelarutan senyawa sampel (hidrofilik atau hidrofobik dan adanya reaksi secara kimia senyawa dengan adsorben atau eluen. Pemilihan

pelarut pengembang yang sesuai biasanya merupakan bagian paling sulit dari eksperimen menggunakan KLT, dan pelarut pengembang adalah faktor dengan pengaruh terbesar, pelarut yang disiapkan harus homogen tanpa tanda kekeruhan. Tiga kriteria biasanya dipertimbangkan untuk memilih sistem pelarut: kelarutan, afinitas, dan resolusi. Langkah pertama dalam pemilihan pelarut adalah menentukan kelarutan sampel. Fase gerak yang diinginkan akan dapat memberikan kelarutan terbesar saat ini menyeimbangkan afinitas sampel untuk pelarut dan fase diam untuk mencapai pemisahan. Resolusi ditingkatkan dengan mengoptimalkan afinitas antara sampel, dan pelarut (Cai, 2014).

Identifikasi dari senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harfa R_f. Harga R_f untuk senyawa murni dapat digunakan perbandingan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 2005):

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak senyawa yang digerakkan dari titik asal}}{\text{jarak pelarut yang digerakkan dari titik asal}} \dots\dots\dots(2.2)$$

Harga R_f senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga R_f senyawa standar. Harga R_f dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya, serta jumlah cuplikan yang digunakan dapat mempengaruhi gerakan noda dalam KLT (Sastrohamidjojo, 2005). Kromatografi lapis tipis analitik ini digunakan untuk mengetahui berapa noda yang terpisah dari eluen terbaik. Eluen yang baik dapat dilihat dari munculnya noda yang tidak berekor dan jarak antar noda yang muncul sangat jelas. Noda yang dihasilkan akan dideteksi dengan pereaksi yang sesuai dengan golongan senyawa yang dipisahkan.

Pereaksi ini akan memberikan perubahan warna yang ada kaitannya dengan struktur senyawa yang bersangkutan, jika senyawa diamati dibawah lampu UV (Harborne, 1987).

2.9 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

FT-IR merupakan alat yang menggunakan prinsip spektroskopi. Spektroskopi *infrared* ini dilengkapi dengan transformasi *fourier* untuk deteksi dan analisa hasil spektrumnya (Kusumastuti, 2011). Spektroskopi FT-IR merupakan salah satu teknik analitik yang digunakan dalam mengidentifikasi struktur molekul suatu senyawa. Komponen utama spektroskopi FT-IR adalah interferometer Michelson yang mempunyai fungsi menguraikan radiasi sinar *infrared* menjadi komponen-komponen frekuensi. Spektroskopi IR dapat digunakan untuk mengidentifikasi struktur molekul yang berasal dari informasi besar hasil yang diperoleh dan kemungkinan untuk menentukan penyerapan band tertentu (Smith, 2011).

Radiasi pada kisaran energi sejalan frekuensi vibrasi ulur tekuk ikatan yang didominasi ikatan kovalen dalam suatu molekul (Gandjar dan Rohman, 2012). Energi yang dihasilkan oleh radiasi ini akan menyebabkan vibrasi atau getaran pada molekul. Pita absorpsi inframerah sangat khas dan spesifik untuk setiap tipe ikatan kimia atau gugus fungsi (Dachriyanus, 2004). Spektroskopi FT-IR dapat mengetahui gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh setiap senyawa berbeda, sehingga dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sankari, dkk., 2010).

Pengukuran pada spektrum inframerah dilakukan pada daerah cahaya inframerah tengah (*mid-infrared*) yaitu pada panjang gelombang 2.5 - 50 μm atau bilangan gelombang 4000 - 200 cm^{-1} . Daerah spektra spektroskopi IR dibagi menjadi 3, yaitu IR dekat (antara 0,8-2,5 μm atau 12500-400 cm^{-1}), IR tengah (antara 2,5-25 μm atau 4000-400 cm^{-1}) dan IR jauh (antara 25-1000 μm atau 400-10 cm^{-1}) (Gandjar dan Rohman, 2012).

2.10 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Beluntas merupakan tanaman yang termasuk dalam herba famili Asteraceae yang tumbuh secara liar di daerah kering di tanah yang keras dan berbatu atau ditanam sebagai tanaman pagar. Allah Swt. berfirman dalam Al-Qur'an surat Yunus ayat 24:

إِنَّمَا مَثَلُ الْحَيَاةِ الدُّنْيَا كَمَاءٍ أَنْزَلْنَاهُ مِنَ السَّمَاءِ فَاخْتَلَطَ بِهِ نَبَاتُ الْأَرْضِ مِمَّا يَأْكُلُ النَّاسُ وَالْأَنْعَامُ ﴿يُونُسُ﴾
﴿٢٤﴾

“Sesungguhnya perumpamaan kehidupan duniawi itu, hanya seperti air (hujan) yang Kami turunkan dari langit, lalu tumbuhlah tanaman-tanaman bumi dengan subur (karena air itu), di antaranya ada yang dimakan manusia dan hewan ternak”.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa bumi sebagai hamparan telah ditumbuhkan berbagai jenis tumbuhan dengan air yang dijatuhkan dari langit. Imani (2008) dalam tafsir Nurul Qur'an menjelaskan bahwa Allah Swt. dengan kekuasaan-Nya telah menurunkan rahmat berupa hujan dari langit sehingga terciptalah aliran air yang baik di atas tanah (sungai) maupun di bawah tanah, yang menjadi tempat tumbuhnya berbagai tumbuhan sehingga tumbuh menjadi subur. Sebagian dari tumbuhan itu bermanfaat bagi makhluk hidup lainnya seperti

manusia dan binatang, salah satunya dengan cara dimakan. Aneka jenis bentuk, dan rasa dari berbagai tumbuhan merupakan hal-hal yang sungguh memukau dan menandakan betapa besar kuasa pencipta-Nya. Allah Swt. menciptakan bermacam-macam tumbuhan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Firman Allah Swt. juga menjelaskan bahwa berbagai macam tumbuhan bermanfaat telah diciptakan yang tertulis pada surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضَ فِي أَرْوَاسٍ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَأْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (لقمان : ١٠)

“Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (bumi) tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”.

Tafsir al Misbah menjelaskan kata *kariim* yang terdapat dalam ayat tersebut berarti sesuatu yang baik. Pasangan tumbuhan yang *kariim* adalah yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari penanamannya (Shihab, 2003). Misalnya tanaman beluntas yang dimanfaatkan sebagai obat. Menurut penjelasan ath-Thabari bahwa Allah Swt. berkuasa atas penciptaan langit dan bumi dengan segala isinya. Berbagai jenis makhluk yang dikembang-biakkan dengan diberi nyawa sehingga bisa bergerak, dan tumbuhan dengan segala manfaatnya.

Tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat merupakan sistem pengobatan dalam Islam yang dicontohkan oleh Nabi Muhammad saw. Metode pengobatan dari Nabi Muhammad berbeda dengan ilmu medis para dokter pada umumnya, yaitu menggunakan pengobatan dengan obat alami (herbal) (Al-Jauziyah, 2008). Tumbuhan herbal adalah tumbuhan yang telah diidentifikasi dan diketahui

berdasarkan pengamatan manusia memiliki senyawa yang bermanfaat untuk mencegah penyembuhan penyakit, berguna untuk membuang racun dalam tubuh manusia. Telah dijelaskan sejak zaman Rasulullah saw. dalam suatu hadist yang berbunyi,

عَنْ أُسَامَةَ بْنِ شَرِيكٍ قَالَ قَالَتْ الْأَعْرَابُ يَا رَسُولَ اللَّهِ أَلَا نَتَدَاوَى قَالَ نَعَمْ يَا عِبَادَ اللَّهِ تَدَاوَوْا فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ يَصْنَعْ دَاءً إِلَّا وَصَّعَ لَهُ شِفَاءً أَوْ قَالَ دَوَاءً إِلَّا دَاءً وَاجِدًا قَالُوا يَا رَسُولَ اللَّهِ وَمَا هُوَ قَالَ الْهَرَمُ قَالَ أَبُو عِيْسَى وَفِي الْبَابِ عَنْ ابْنِ مَسْعُودٍ وَأَبِي هُرَيْرَةَ وَأَبِي خُرَّامَةَ عَنْ أَبِيهِ وَابْنِ عَبَّاسٍ وَهَذَا حَدِيثٌ حَسَنٌ صَحِيحٌ

“Dari Usamah bin Syarik ia berkata; Para orang Arab baduwi berkata, *"Wahai Rasulullah, Tidakkah kami ini harus berobat (jika sakit)?" Beliau menjawab: "Iya wahai sekalian hamba Allah, Berobatlah sesungguhnya Allah tidak menciptakan suatu penyakit melainkan menciptakan juga obat untuknya kecuali satu penyakit." Mereka bertanya, "Penyakit apakah itu wahai Rasulullah?" Beliau menjawab: "Yaitu penyakit tua (pikun)"*,” Abu Isa berkata; Hadits semakna diriwayatkan dari Ibnu Mas'ud, Abu Hurairah, Abu Khuzaimah dari bapaknya dan Ibnu Abbas. Dan ini merupakan hadits hasan shahih.

Berdasarkan hadist tersebut Rasulullah saw. memposisikan obat dan penyakit sebagai sesuatu yang berlawanan, dan setiap penyakit pasti memiliki obat yang telah disediakan oleh Allah Swt. Obat dapat diperoleh dengan memanfaatkan dan memperhatikan berbagai potensi jenis tumbuhan yang ada di lingkungan sekitar. Metabolit sekunder dalam bidang pengobatan memiliki aktivitas yang berbeda beda. Sebagai contoh fenolik yang dapat berupa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Silalahi, 2019). Allah Swt. menciptakan segala sesuatu dengan memberikan manfaat yang terkandung di dalamnya dan segala sesuatu di bumi ini dengan kesempurnaan. Segala ciptaan-Nya menunjukkan betapa Maha Sempurna dan Maha Kuasa Allah Swt. sebagai *Rabbul 'alamin* (Tuhan semesta alam). Selain itu, segala apa yang ada di bumi ini juga menunjukkan betapa besar kasih sayang Allah Swt. kepada manusia.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada April sampai Juli 2021 di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Instrumentasi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik, bola hisap, mortar, pisau, kertas saring, corong buchner *vacum*, cawan porselen, neraca analitik, gunting, lemari asam, inkubator, *rotary evaporator vacum*, *shaker*, *vortex*, corong pisah, desikator, oven, *hot plate*, stirer, botol larutan, bejana pengembang, plat silika gel F₂₅₄, Spektrofotometer Inframerah, dan spektrofotometer UV-Vis *Varian Carry*.

3.2.2 Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun beluntas (*Pluchea Indica* L.) berasal dari daerah Kedungkandang Malang.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquades, metanol *p.a*, metanol 50%, etanol *p.a*, etil asetat *p.a*, kloroform *p.a*, n-heksana, DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) *p.a*, KMnO₄ 0,1 %, gas N₂, HCl 2%, HCl 1N, HCl 2N, HCl pekat, H₂SO₄ pekat, natrium bikarbonat (NaHCO₃), reagen Dragendroff, reagen Mayer,

reagen Lieberman Burchard, serbuk logam Mg, asam asetat anhidrat, FeCl₃ 1%, uap amonia dan KLT Gel 60 F₂₅₄.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan berikut:

1. Preparasi sampel,
2. Penentuan kadar air,
3. Ekstraksi daun beluntas menggunakan metode maserasi dilanjutkan dengan proses hidrolisis kemudian diekstraksi kembali dengan metode partisi,
4. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada konsentrasi 1, 5, 25, 50, dan 100,
5. Identifikasi golongan senyawa aktif dengan penambahan reagen,
6. Uji senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA),
7. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer FT-IR,
8. Analisis data.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Daun beluntas diambil sebanyak 4 kg dan dicuci dengan air hingga kotoran yang menempel hilang, kemudian diiris kecil-kecil lalu dikeringanginkan selama 3 hari pada suhu kamar 25-27°C dan sampel yang sudah kering dihaluskan dengan ukuran 40 mesh di Materia Medika Kota Batu (Paini, dkk., 2012).

3.4.2 Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri

Pada penentuan kadar air, disiapkan cawan porselen terlebih dahulu, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, sebanyak 2 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan dalam oven dan dikeringkan pada suhu 100-105 °C selama 5 jam, kemudian sampel disimpan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan (Ramdan, 2019). Kadar air dalam Daun beluntas dihitung menggunakan persamaan (3.1) (AOAC, 1990):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \text{ (AOAC, 1990)} \dots\dots\dots(3.1)$$

Dimana : a = bobot cawan kosong

 b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

 c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

3.4.3 Ekstraksi Daun beluntas

Ekstraksi komponen senyawa aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman. Serbuk daun beluntas yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 300 gram, dimana pada tahapan ini sampel di bagi menjadi tiga. Proses maserasi yang pertama, sampel sebanyak 100 gram dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian ditutup dengan aluminium foil, diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 500 mL (1:5 b/v) selama 3 x 24 jam pada suhu kamar kemudian dilakukan pengocokan menggunakan shaker

dengan kecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*) selama 3 jam. Selanjutnya maserasi yang ke-2 dan ke-3 dilakukan dengan perlakuan yang sama. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan corong Buchner. Residu yang diperoleh dimaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak 3 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama sampai filtrat yang didapatkan bening. Setelah itu, dilakukan penyaringan. Filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu. Lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* setelah itu dialiri gas N₂. Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya dengan Persamaan 3.2 (Khopkar, 2003).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.1)$$

Ekstrak yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C dan gelap sampai analisis selanjutnya.

3.4.4 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair Ekstrak Pekat Metanol

Ekstrak pekat metanol sebanyak 12 gram, kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 24 mL asam klorida (HCl) 2N ke dalam ekstrak pekat dengan perbandingan (1:2). Hidrolisis dilakukan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang (Tensiska, *et al.*, 2007). Masing-masing hidrolisat yang diperoleh ditambahkan dengan natrium bikarbonat (NaHCO₃) sampai pH-nya netral, lalu masing-masing hidrolisat dipartisi. Proses partisi (ekstraksi cair-cair) dilakukan dengan corong pisah, hasil ekstrak pekat yang diperoleh dari proses hidrolisis disuspensi dengan fraksi air dan n-heksana sebanyak 45 mL dimasukkan dalam corong pisah dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Diambil fase organik yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* dengan suhu di bawah 40 °C sedangkan fase air

ditambahkan dengan etil asetat sebanyak 45 mL dalam corong pisah, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fase organik etil asetat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator vacuum* pada suhu di bawah 40 °C dan fase air dipekatkan dengan menggunakan waterbath (Depkes, 2008). Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya.

3.4.5 Uji Antioksidan dengan DPPH

3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 µM sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 4,5 mL etanol 95% lalu ditutup tabung reaksi dengan aluminium foil. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Dicari λ_{maks} larutan dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, dkk., 2010).

3.4.5.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM diambil sebanyak 1,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan aluminium foil, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan.

Sampel dari masing-masing fraksi dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 1, 5, 25, 50, dan 100 ppm. Disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH:ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut diulangi

sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh untuk mengukur absorbansinya pada λ maks. Selanjutnya masing-masing persen (%) aktivitas antioksidan ekstrak dihitung nilai EC₅₀ nya dengan “*microsoft excel*”

3.4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dengan Uji Fitokimia

3.4.6.1 Identifikasi Steroid/Terpenoid

Ekstrak daun beluntas sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1–2 mL H₂SO₄ pekat (pereaksi *Lieberman Burchard*) melalui dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Hayati, 2010).

3.4.6.2 Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun beluntas dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Hayati, 2010).

3.4.6.3 Identifikasi Alkaloid

Ekstrak daun beluntas sebanyak 3 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 1 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambah 2–3 tetes reagen Dragendroff, tabung II ditambah 2–3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid (Hayati, 2010).

3.4.6.4 Identifikasi Asam Askorbat

Ekstrak kasar diambil 5 mg dilarutkan dalam aquadest 5 mL, kemudian ditambahkan 10 mL larutan KMnO_4 0,1%. Jika terbentuk warna coklat maka menunjukkan adanya asam askorbat (Auterhoff, et al., 1987).

3.4.6.5 Identifikasi Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan dan kemudian dikocok vertikal selama 10 detik. Adanya pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan positif golongan saponin. Pada penambahan 1 tetes HCL 1N, busa tidak hilang (Putri, Warditiani & Larasanti, 2013).

3.4.6.6 Identifikasi Tanin

Sebanyak 1,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 5 mL aquades kemudian ditetaskan larutan besi (III) klorida 10%. Jika terjadi perubahan warna menjadi hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin dan polifenol (Simamere, 2014).

3.4.7 Uji Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Identifikasi dengan KLTA digunakan plat silika gel F₂₅₄ yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60-70°C selama 10 menit. Plat KLT disiapkan dengan melapiskan diatas permukaan lapisan kaca ketebalan 250 μM dibuat dengan ukuran 1x10 cm . Ekstrak sampel ditotolkan sebanyak 5-20 totolan pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan.. Setiap golongan memiliki campuran fasa gerak yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan dalam *great chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 20-30 menit. Eluen yang sudah jenuh dicek dengan

membasahi kertas saring pada uap eluen. Ekstrak yang ditotolkan pada plat dielusi dengan fase gerak golongan golongan senyawanya. Setelah gerakan fase gerak sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda-noda pada permukaan plat diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya.

3.4.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Karakterisasi pada penelitian ini menggunakan spektrofotometer FT-IR (Fourier Transform Infra Red). Endapan dicampur dengan KBr. Digerus dalam mortar agate. Masukkan dalam wadah pellet. Tekan dan bentuk pellet menggunakan seperangkat alat pembentuk pellet. Letakkan pellet yang telah terbentuk pada *cell holder* dalam instrument FT-IR. Kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer FT-IR pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .

3.5 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi dari masing-masing ekstrak kasar, fraksi dan pembanding asam askorbat dan BHT, kemudian dilakukan perhitungan nilai EC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara log konsentrasi ekstrak (x) dengan persen (%) aktivitas antioksidan (y). Identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak daun beluntas dilakukan secara kualitatif melalui uji reagen dan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA), Serta menggunakan spektrofotometer FT-IR.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi daun beluntas (*Pluchea indica* L.) diawali dengan pencucian untuk membersihkan pengotor. Pengeringan tanpa sinar matahari secara langsung untuk mengurangi kadar air, mencegah tumbuhnya mikroba, menghentikan reaksi enzimatis, dan mempermudah proses penghalusan sampel menjadi serbuk. Proses pengeringan ini mengubah warna daun dari hijau menjadi hijau kecoklatan sampai kehitaman yang disebabkan oleh terjadinya proses degradasi klorofil. Ion magnesium (Mg^{2+}) dalam struktur molekul klorofil dapat digantikan oleh 2 ion H^+ dan membentuk senyawa baru yaitu feofitin (Donorwati dan Fidhiani, 2020). Daun beluntas kering dihaluskan untuk menghomogenkan ukuran dan memperluas permukaan partikel sehingga memaksimalkan kontak antara sampel dengan pelarut dalam proses ekstraksi (Maulida dan Guntarti, 2015). Serbuk daun beluntas dihasilkan sebanyak 340 gram dari 6 Kg sampel basahya dengan rendemen sebesar 5,6% (Perhitungan L4.1).

4.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri

Penentuan kadar air sangat penting dilakukan untuk mengetahui batasan maksimal kandungan air di dalam sampel. Hal ini berkaitan dengan kemurnian dan kemungkinan terjadinya kontaminasi. Hasil penentuan kadar air sampel kering daun beluntas pada penelitian ini sebesar 8,2% (Perhitungan L4.2). Nilai tersebut memenuhi standar Depkes RI (1994) yang menyatakan bahwa batas

maksimum kadar air dalam sediaan obat tradisional termasuk serbuk simplisia adalah sebesar 10%, artinya kadar air sampel kering daun beluntas tidak melebihi ambang batas maksimum kadar air yang disyaratkan untuk proses ekstraksi dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang panjang. Semakin kecil kadar air maka proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut akan lebih maksimal karena tidak terganggu molekul air pada sampel. Sedangkan kadar air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat mendekomposisi senyawa aktif di dalam sampel dan mempercepat pembusukan (Febriani, 2015).

4.3 Ekstraksi Sampel

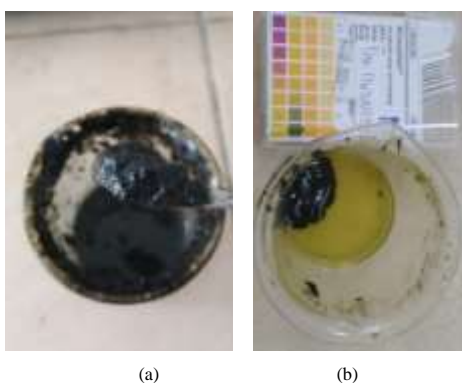
Larutnya senyawa metabolit sekunder ke dalam pelarut metanol ditunjukkan dengan perubahan warna pelarut dari bening ke hijau tua dan meninggalkan residu. Penyaringan dilakukan menggunakan penyaring vakum untuk memisahkan filtrat dengan residu yang akan dimaserasi kembali. Pengulangan proses maserasi menunjukkan penurunan intensitas warna hijau dari filtrat yang diasumsikan bahwa senyawa aktif telah berangsur-angsur terekstrak ke dalam pelarut metanol dengan maksimal. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan untuk menghilangkan pelarutnya. Pelarut dapat menguap pada suhu 5-10 °C dibawah titik didihnya karena adanya penurunan tekanan (Sudjaji, 1988).

Ekstrak pekat yang didapatkan dari penelitian ini adalah 20,5413 gram dengan rata-rata rendemen sebesar 20,54% (Perhitungan L4.3) berwarna hijau kehitaman. Penelitian yang telah dilakukan oleh Widyawati (2012) mengekstraksi daun beluntas dengan pelarut metanol mendapatkan rendemen yang lebih kecil yaitu sebesar 15,22%. Hasil rendemen yang berbeda ini disebabkan karena perbedaan kadar air dan kandungan senyawa pada sampel. Muchtadi (1988)

menyatakan bahwa kandungan senyawa kimia dalam tanaman dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain perbedaan varietas, keadaan iklim, tempat tumbuh, cara pemeliharaan tanaman, cara pemanenan, dan kematangan pada waktu panen serta kondisi penyimpanan setelah panen.

4.4 Hidrolisis dan Partisi

Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol daun beluntas umumnya masih terikat dengan gugus gula sehingga perlu dilakukan pemutusan ikatan glikosidanya dengan cara hidrolisis. Penambahan asam kuat diperlukan untuk mempercepat reaksi. Katalis asam menyebabkan penurunan pH karena semakin banyak proton yang terionisasi dalam air. Pengadukan dilakukan agar ekstrak pekat dapat tercampur secara merata sehingga memaksimalkan pemutusan ikatan glikosidanya. Penambahan penetral untuk menghentikan reaksi agar tidak terbentuk kembali ikatan glikosida antara aglikon dan glikon karena pada pH 7 glikosida dalam keadaan stabil (Fessenden dan Fessenden, 1986). Hasil reaksi antara HCl dan NaHCO_3 pada proses penetralan ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung busa. Gelembung tersebut merupakan CO_2 yang tidak muncul kembali pada saat komponen zat aktif telah netral.



Gambar 4.1 Ekstrak pekat sebelum (a) dan sesudah hidrolisis (b)

Perbedaan kepolaran pada senyawa yang didapat terlihat pada gambar 4.1 dari adanya gumpalan yang tidak larut. Beberapa metabolit sekunder aglikon bersifat polar, semipolar dan non polar, sedangkan glikon bersifat polar. Hal ini menunjukkan bahwa ikatan antara metabolit sekunder dengan gugus gula telah terputus. Hasil hidrolisis yang diperoleh berupa senyawa metabolit sekunder (aglikon) yang telah terpisah dengan gugus gulanya (glikon), sehingga dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan cara partisi bertingkat untuk menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan. Variasi pelarut dengan perbedaan kepolaran digunakan dalam proses ekstraksi cair-cair ini, agar setiap metabolit sekunder terikat sesuai dengan prinsip *like dissolve like*. Rendemen hasil partisi ekstrak metanol daun beluntas dengan variasi pelarut ditampilkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rendemen hasil partisi

Fraksi	Warna Fraksi pekat	Berat Fraksi pekat (g)	Rendemen
n-Heksana	Hijau Kehitaman	1,4537	16,15%
Etil Asetat	Cokelat Kehitaman	3,5717	39,69%
Air	Kuning	3,9745	44,16%

Perbedaan tingkat kepolaran menyebabkan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling bercampur. Lapisan atas berupa fase organik dan lapisan bawah berupa fase air. Hal ini disebabkan oleh densitas pelarut organik yang lebih kecil dibandingkan air (1 g/mL) yaitu n-Heksana sebesar 0,6548 g/mL dan etil asetat sebesar 0,902 g/mL. Partisi dengan pelarut n-Heksana menghasilkan lapisan atas berwarna hijau kehitaman, sedangkan dengan pelarut etil asetat menghasilkan lapisan atas berwarna coklat kehitaman, dan fase air pada lapisan bawah

berwarna kuning. Fraksi hasil pemekatan juga berwarna sama dengan warna lapisan yang terbentuk.

Rendemen fraksi air lebih besar dibandingkan dengan rendemen fraksi etil asetat dan n-heksana, hal ini menunjukkan bahwa penyusun terbesar ekstrak metanol daun beluntas merupakan komponen yang sangat polar. Data pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa kadar komponen semipolar lebih besar dibandingkan komponen non polar. Hal ini dibuktikan oleh rendemen fraksi n-heksana yang lebih rendah dari fraksi etil asetat. Senyawa yang bersifat non polar merupakan komponen penyusun ekstrak metanol daun beluntas terendah yang dapat terekstrak oleh n-heksana diduga terdiri dari triterpenoid, steroid, lemak, dan klorofil yang menyebabkan warna hasil fraksi n-heksana lebih hijau pekat dibandingkan fraksi pekat lainnya, dikarenakan pelarut yang mampu mengekstrak klorofil yang ada dalam tumbuhan (Koirewoa, 2012).

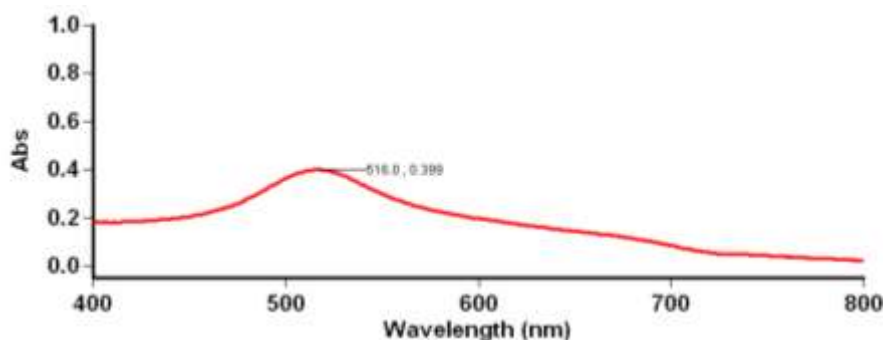
Hasil tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Marsasi (2019) telah mempartisi ekstrak metanol daun beluntas dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan air. Rendemen yang dihasilkan oleh ketiga fraksi tersebut meliputi fraksi n-heksana dengan rendemen terkecil sebesar 26,37%, fraksi etil asetat sebesar 36,26% dan fraksi air dengan rendemen terbesar daripada fraksi lainnya yaitu 37,36%, sehingga partisi bertingkat yang dilakukan mampu memisahkan lebih lanjut senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol Beluntas sesuai dengan kepolarannya.

4.5 Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH

4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pengukuran panjang gelombang DPPH sebagai kontrol bertujuan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran dan menjaga kekonstanan

konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2003). Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,2 mM diperoleh sebesar 516 nm. Serapan tersebut yang menunjukkan adanya kromofor C=C terkonjugasi dan gugus auksokrom -NO₂. Hal ini sesuai dengan penelitian Wulansari (2011) tentang penentuan panjang gelombang maksimum DPPH sebesar 516 nm. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

4.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Peredaman radikal yang diperoleh pada Tabel 4.2 berbanding lurus. Persen aktivitas antioksidan mengalami kenaikan dengan semakin naiknya konsentrasi sampel. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasinya maka semakin banyak senyawa aktif yang memberikan atom H pada radikal DPPH dan membentuk senyawa DPPH-H yang stabil (Rahayu, dkk., 2010). Hasil % aktivitas antioksidan dapat digunakan untuk mengetahui potensi antioksidan dalam sampel dengan nilai EC₅₀. Semakin kecil nilai EC₅₀ maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi sehingga konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50% semakin kecil (Molyneux, 2003).

Tabel 4.2 Hasil % aktivitas antioksidan dan nilai EC₅₀

Sampel	Konsentrasi	% Aktivitas Antioksidan	Nilai EC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Metanol	1 ppm	7,731	1,52
	5 ppm	7,773	
	25 ppm	26,522	
	50 ppm	58,464	
	100 ppm	83,135	
Fraksi Air	1 ppm	6,661	9,02
	5 ppm	7,407	
	25 ppm	8,296	
	50 ppm	11,522	
	100 ppm	19,055	
Fraksi Etil Asetat	1 ppm	35,948	0,39
	5 ppm	59,665	
	25 ppm	85,543	
	50 ppm	86,693	
	100 ppm	87,201	
Fraksi n-Heksana	1 ppm	6,132	15,64
	5 ppm	7,453	
	25 ppm	9,506	
	50 ppm	10,483	
	100 ppm	11,874	

Hasil pengukuran nilai EC₅₀ menunjukkan bahwa fraksi air, etil asetat, n-heksana dan ekstrak metanol hasil hidrolisis daun beluntas secara berturut-turut sebesar 9,02; 0,39; 15,64; dan 1,52 ppm. Nilai EC₅₀ seluruh sampel tersebut kurang dari 50 ppm artinya berpotensi sebagai antioksidan sangat kuat. Fraksi etil asetat daun beluntas memiliki potensi aktivitas antioksidan tertinggi, sedangkan fraksi n-heksana memiliki potensi aktivitas antioksidan terendah. Penelitian yang telah dilakukan oleh Widyawati (2012) juga menghasilkan potensi aktivitas antioksidan fraksi etil asetat tertinggi dibandingkan dengan fraksi air, n-butanol, dan ekstrak metanol daun beluntas. Damanik (2019) telah melakukan penelitian dengan fraksi n-heksana yang menghasilkan potensi aktivitas antioksidan terendah dibandingkan ekstrak etanol daun beluntas dan fraksi kloroform. Hal tersebut

kemungkinan seperti yang diinformasikan oleh Huang, dkk., (2010) bahwa senyawa antioksidan semipolar mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan senyawa antioksidan polar dan non polar. Selain itu Conforti, dkk., (2009) menjelaskan bahwa posisi gugus hidroksil pada cincin aromatis dalam molekul sangat mempengaruhi aktivitas antioksidannya.

4.6 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan tahap awal untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat di dalam fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak metanol daun beluntas. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna dan busa akibat penambahan suatu pereaksi warna (Kristanti, dkk., 2006).

Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia

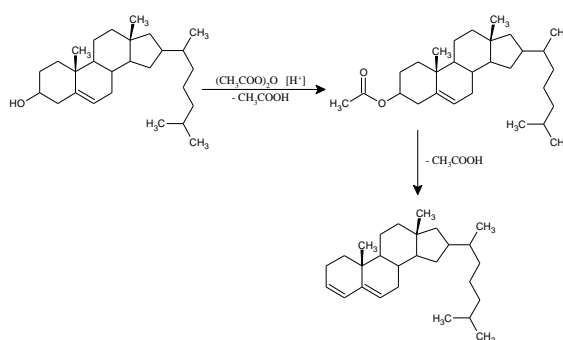
Golongan Senyawa Aktif	Ekstrak Metanol	Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksana
Steroid	+	-	+	+
Triterpenoid	+	-	+	+
Flavonoid	+	+	+	-
Alkaloid				
- Mayer	-	+	-	-
- Dragendrof	-	+	-	-
Saponin	+	+	+	-
Asam Askorbat	+	+	+	+
Tanin				
- FeCl ₃ 1 %	+	+	+	-

Keterangan : + = Positif mengandung senyawa
- = Negatif mengandung senyawa

4.6.1 Steroid

Uji fitokimia steroid menggunakan reagen *Lieberman-Burchard* yang terdiri dari kloroform, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat. Kloroform berfungsi untuk melarutkan senyawa steroid, tidak adanya molekul air dalam pelarut ini tidak akan

merubah asam asetat anhidrat menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalan sehingga turunan asetil tidak akan terbentuk. Asam asetat anhidrat berfungsi membentuk turunan asetil dalam proses asetilasi gugus hidroksil. Hal ini dikarenakan gugus asetil merupakan gugus pergi yang baik, sehingga terbentuk ikatan rangkap yang terkonjugasi akibat adanya reaksi oksidasi dengan golongan senyawa steroid. Reaksi yang terjadi antara senyawa steroid dengan pereaksi *Lieberman-Burchard* ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Dugaan reaksi uji senyawa steroid/terpenoid (Sahriawati, dkk., 2020)

Penambahan asam sulfat dari reagen menyebabkan dehidrasi pada senyawa steroid, sehingga membentuk garam yang dapat memberikan warna (Qalb, dkk., 2017). Terbentuknya warna hijau pada larutan menandakan adanya senyawa steroid (Astuti, dkk., 2014). Ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat menunjukkan positif steroid, sedangkan fraksi air tidak mengalami perubahan warna sehingga negatif mengandung steroid. Hasil tersebut diperkuat oleh Widyawati (2012) yang menyatakan bahwa hanya fraksi air daun beluntas yang tidak mengandung steroid. Hal ini diduga karena perbedaan tingkat kepolaran air dengan senyawa steroid. Golongan senyawa steroid bersifat non polar (Nystrom, dkk., 2007), sedangkan air bersifat sangat polar (Carey dan

Sundberg, 2007) sehingga senyawa steroid tidak dapat terekstrak ke dalam fraksi air, karena tidak memenuhi prinsip *like dissolve like*.

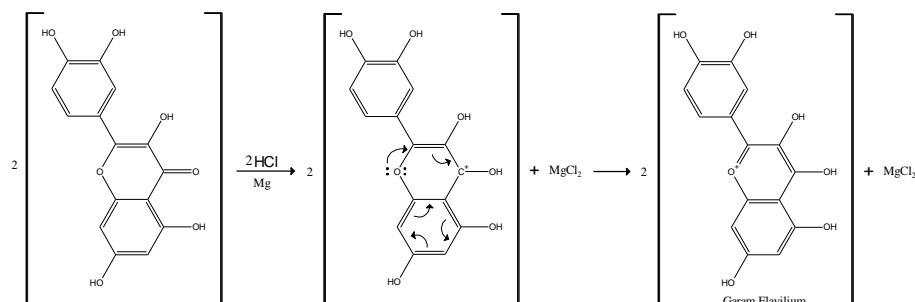
4.6.2 Terpenoid

Pengujian terpenoid menggunakan pereaksi Lieberman-burchard menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya cincin coklat pada batas larutan saat penambahan asam sulfat. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh terpenoid dan steroid dikarenakan adanya perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana dan Saleh, 2011). Perubahan warna terlihat pada ekstrak metanol, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat daun beluntas, kecuali fraksi air yang tidak mengalami perubahan warna. Harborne (1987) menyatakan bahwa senyawa terpenoid umumnya merupakan senyawa yang larut dalam lemak, maka berdasarkan kepolarannya dalam pengujian ini senyawa terpenoid dilarutkan dalam kloroform karena sama-sama bersifat nonpolar. Oleh sebab itu, senyawa terpenoid tidak dapat terekstrak oleh fraksi air karena perbedaan kepolarannya.

4.6.3 Flavonoid

Ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan hasil positif flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna fraksi menjadi berwarna jingga setelah penambahan HCl, sedangkan fraksi n-heksana tidak terjadi perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi dikarenakan adanya endapan garam flavilium hasil reduksi gugus OH inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid. Struktur khas senyawa flavonoid yaitu mengandung dua cincin aromatik dan gugus hidroksil lebih dari satu (Robinson, 1995). Gelembung-gelembung yang muncul pada saat penambahan HCl merupakan gas H₂ (Illing,

dkk., 2017). Reaksi yang terjadi pada uji fitokimia flavonoid ditunjukkan oleh Gambar 4.4.



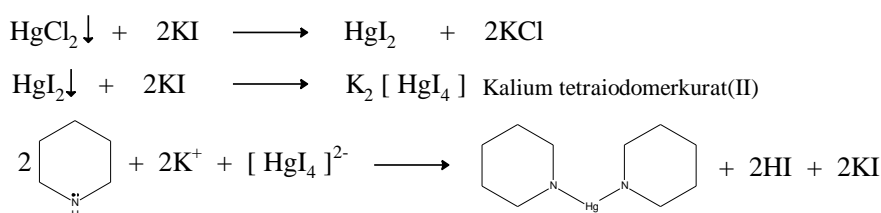
Gambar 4.4 Dugaan reaksi uji senyawa flavonoid (Illing, dkk., 2017)

Berdasarkan hasil pada Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa senyawa flavonoid tidak terlarut dalam pelarut n-heksana yang bersifat nonpolar. Hasil tersebut diperkuat oleh Damanik (2019) yang menyatakan bahwa fraksi n-heksana daun beluntas tidak mengandung flavonoid. Hal ini dikarenakan perbedaan tingkat kepolaran n-heksana dengan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun beluntas. Penelitian oleh Widyawati (2012) yang menginformasikan bahwa fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak metanol daun beluntas mengandung flavonoid. Flavonoid penyusun daun beluntas dimungkinkan cenderung bersifat polar dan semipolar.

4.6.4 Alkaloid

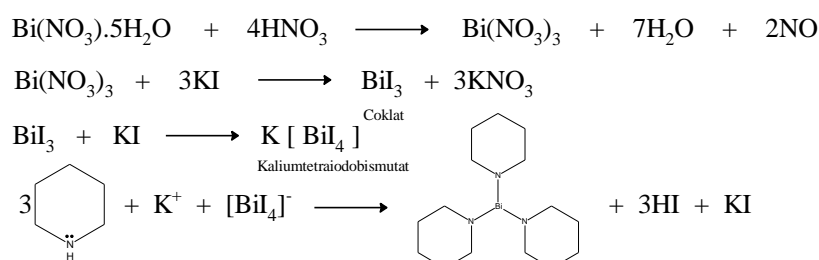
Prinsip uji fitokimia alkaloid adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen memiliki pasangan elektron bebas pada struktur alkaloid yang mampu mengganti ion iod dalam pereaksi dragendroff dan pereaksi mayer (Marliana dkk., 2005). Penambahan asam klorida bertujuan untuk mengekstrak senyawa alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam (Jones dan Kinghorn, 2006). Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan.

Endapan tersebut diduga terbentuk karena nitrogen pada alkaloid bereaksi dengan ion logam dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid. Hal ini dikarenakan ion merkuri merupakan ion logam berat yang mampu mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa (Svehla, 1990). Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Dugaan reaksi uji alkaloid pereaksi mayer (Sriwahyuni, 2010)

Pengujian alkaloid menggunakan pereaksi mayer menunjukkan hasil positif hanya pada fraksi air dengan terbentuknya endapan putih, sedangkan pada ekstrak dan fraksi lainnya tidak terbentuk endapan. Hal ini diduga karena senyawa alkaloid umumnya merupakan senyawa non-polar, tetapi pada kelompok pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air. Alkaloid yang terekstrak pada pelarut polar adalah golongan senyawa alkaloid yang berpotensi sebagai antioksidan (Sudirman, 2011). Hasil tersebut diperkuat pada pengujian alkaloid menggunakan pereaksi dragendorff yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (Miroslav, 1971). Reaksi uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4.6.

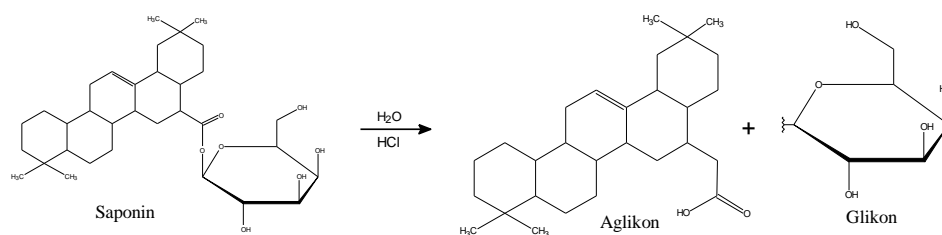


Gambar 4.6 Dugaan reaksi uji alkaloid pereaksi Dragendorff (Sriwahyuni, 2010)

Pengujian alkaloid menggunakan pereaksi dragendorff menunjukkan hasil yang sama pada fraksi air dengan terbentuknya endapan coklat, sedangkan pada ekstrak dan fraksi lainnya tidak terbentuk endapan. Namun metode ini memiliki kelemahan yaitu pereaksi-pereaksi tersebut tidak saja dapat mengendapkan alkaloid tetapi juga dapat mengendapkan beberapa jenis senyawa antara lain, protein, kumarin, α -piron, hidroksi flavon, dan tanin. Reaksi tersebut dikenal dengan istilah “falsepositive” (Ergina, 2014).

4.6.5 Saponin

Uji saponin dilakukan dengan uji busa yang menunjukkan adanya glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya sehingga mampu membentuk busa dalam air (Rusdi, 1990). Busa yang terbentuk pada pengujian ini bersifat stabil. Penambahan HCl dapat membuat busa lebih mantap dan stabil. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang memiliki dua sifat berlawanan pada strukturnya. Saat dikocok, gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk busa. Reaksi yang terjadi pada uji fitokimia saponin ditunjukkan oleh Gambar 4.7.



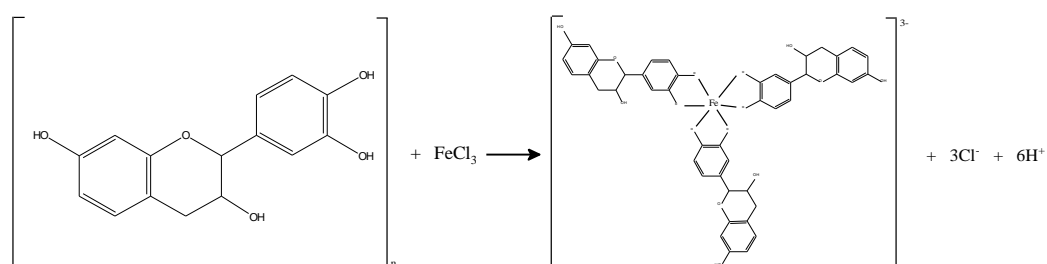
Gambar 4.7 Dugaan reaksi uji senyawa saponin (Illing, dkk., 2017)

Saponin dapat larut dalam air dikarenakan adanya gugus hidrofil (OH) yang mampu membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air. Hasil pengujian ekstrak

metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air menunjukkan positif saponin dengan adanya busa yang stabil dan tidak hilang, sedangkan fraksi n-heksana tidak membentuk busa. Hasil tersebut diperkuat oleh Kusuma (2013) yang menyatakan bahwa pelarut n-heksana daun beluntas tidak mengandung saponin. Hal ini diduga karena senyawa saponin cenderung tertarik oleh pelarut yang bersifat semi polar dan polar. Komponen ikatan glikosida yang terdapat didalam saponin membuat senyawa ini bersifat polar (Harborne, 1987).

4.6.6 Tanin

Uji fitokimia untuk mendeteksi senyawa tanin pada penelitian ini menggunakan logam transisi Fe. Logam Fe merupakan salah satu logam yang sering digunakan untuk reaksi kompleksasi karena mudah membentuk senyawa kompleks. Hal ini kemungkinan dikarenakan delokalisasi elektron dalam orbital s dan d. Senyawa transisi stabil dan lebih mudah membentuk kompleks daripada senyawa golongan utama karena titik leleh dan entalpi molar penggabungan logam transisi lebih tinggi daripada unsur golongan utama (Rosyda dan Ersam, 2009). Reaksi yang terjadi antara senyawa tanin dengan pereaksi FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 4.8



Gambar 4.8 Dugaan reaksi uji senyawa tanin (Illing, dkk., 2017)

Perubahan warna pada sampel setelah penambahan FeCl_3 menunjukkan adanya senyawa fenolik yang teroksidasi. Senyawa fenolik dalam sampel

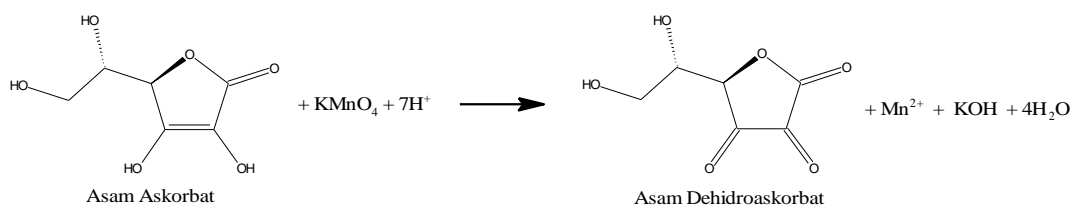
diperkirakan adalah senyawa tanin, hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna filtrat dari coklat kehijauan menjadi hijau kehitaman. Warna tersebut muncul karena terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan ion Fe^{3+} sebagai atom pusat (Jones dan Kinghorn, 2006). Senyawa tanin memiliki atom O dengan pasangan elektron bebas yang dapat mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya. Ion Fe^{3+} mampu mengikat tiga senyawa tanin yang mempunyai 2 atom donor yaitu atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi, sehingga ada enam pasangan elektron bebas yang bisa dikoordinasikan ke atom pusat. Atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi memiliki energi paling rendah dalam pembentukan senyawa kompleks, sehingga memungkinkan menjadi sebuah ligan (Sa'adah, 2010).

Ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air menunjukkan positif tanin, sedangkan fraksi n-heksana tidak mengalami perubahan warna sehingga negatif mengandung tanin. Hasil positif menunjukkan adanya senyawa polifenol yang kemungkinan salah satunya adalah tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hasil tersebut diperkuat oleh Damanik (2019) yang menyatakan bahwa fraksi n-heksana daun beluntas tidak mengandung tanin. Hal ini diduga karena perbedaan tingkat kepolaran n-heksana dengan senyawa tanin. Golongan senyawa tanin cenderung bersifat polar sedangkan n-heksana bersifat non polar sehingga senyawa tanin tidak dapat terekstrak ke dalam fraksi n-heksana.

4.6.7 Asam Askorbat

Uji fitokimia asam askorbat menggunakan reagen KMnO_4 menyebabkan terjadinya reaksi reduksi dan oksidasi. Asam askorbat bertindak sebagai reduktor atau yang mengalami oksidasi dan KMnO_4 sebagai oksidator atau yang mengalami reduksi. Ion permanganat menerima elektron yang dilepaskan oleh

asam askorbat sehingga warna KMnO_4 hilang. Perubahan warna KMnO_4 yang awalnya berwarna ungu kecoklatan menjadi endapan coklat menunjukkan terbentuknya ion Mn^{2+} setelah penambahan reagen kalium permanganat pada sampel (Chandra, dkk., 2019). Reaksi yang terjadi antara asam askorbat dengan pereaksi KMnO_4 ditunjukkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Dugaan reaksi uji asam askorbat (Sari, dkk., 2021)

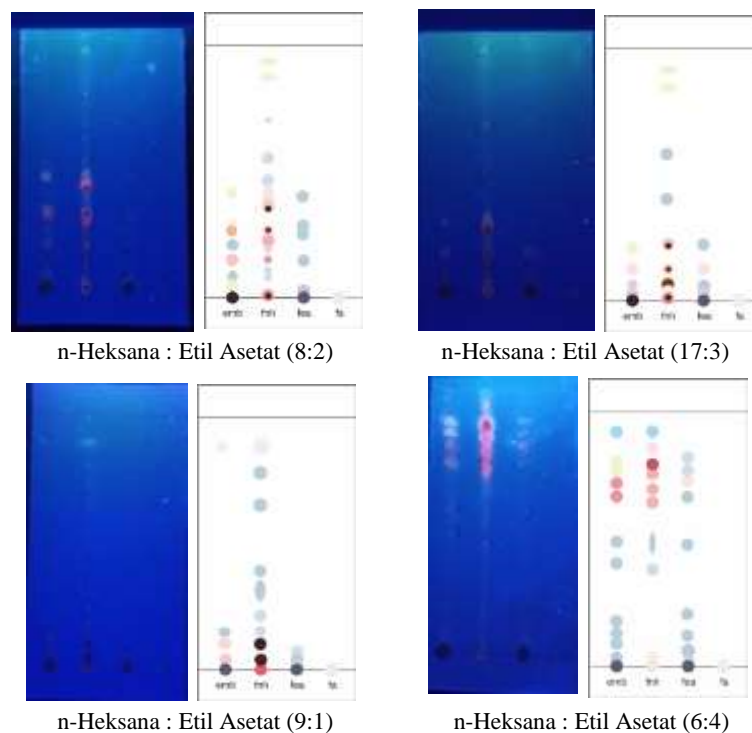
Berdasarkan hasil pada Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air positif mengandung asam askorbat. Adanya asam askorbat pada sampel yang berubah menjadi asam dehidroaskorbat disebabkan reaksi oksidasi oleh ion permanganat. Hasil tersebut diperkuat oleh Rukmiasih (2011) yang menginformasikan bahwa daun beluntas mengandung vitamin C sebesar 98,25 mg/100 g. Vitamin C memiliki banyak ikatan polar O-H dan C-O sehingga membuat vitamin C bersifat polar (Zumdhahl dan Zumdhahl, 2007). Vitamin C mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, tidak larut dalam kloroform, eter dan benzene (Duerbeck, dkk., 2016), oleh sebab itu semua pelarut dalam penelitian ini mampu melarutkan vitamin C.

4.7 Pemisahan menggunakan KLTA

Analisis menggunakan KLTA dilakukan untuk mempertegas hasil yang diperoleh pada uji fitokimia dan mencari eluen terbaik untuk digunakan pada

pemisahan yang lebih lanjut. Eluen terbaik yang digunakan dalam pemisahan apabila dapat memisahkan komponen senyawa berupa noda yang banyak, noda yang berbentuk bulat dan tidak berekor, dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas. Noda tersebut terpisah berdasarkan tingkat kepolaran, dimana noda yang cenderung memiliki sifat kepolaran yang tinggi akan menghasilkan R_f lebih rendah, karena senyawa lebih terdistribusi ke fase diam (silika) yang bersifat polar, sedangkan yang bersifat kepolaran rendah akan menghasilkan nilai R_f lebih besar karena lebih terdistribusi ke fase geraknya (Effendy, 2010).

Hasil pemisahan beberapa variasi eluen pada Tabel L4.13 menunjukkan eluen dengan pemisahan terbaik yaitu n-heksana : etil asetat pada perbandingan 8:2 daripada perbandingan eluen yang lainnya. Jumlah noda yang diduga steroid pada perbandingan ini lebih banyak dan tidak berekor sehingga jarak antar noda terlihat jelas. Pola pemisahan eluen dengan perbandingan 9:1 juga menghasilkan jumlah noda yang diduga steroid sama banyak daripada variasi eluen lainnya tetapi jarak antar noda kurang terpisah dengan jelas. Perbandingan eluen 17:3 menghasilkan jumlah noda terbanyak tetapi yang diduga steroid lebih sedikit, noda yang terbentuk lebih banyak diduga terpenoid sehingga jarak antar noda sangat dekat. Hal ini juga ditunjukkan oleh noda hasil pemisahan dengan eluen pada perbandingan 6:4, noda yang terbentuk berekor dan tidak jelas. Hasil ilustrasi pola pemisahan steroid dengan beberapa variasi eluen pada KLTA ditunjukkan pada Gambar 4.10.

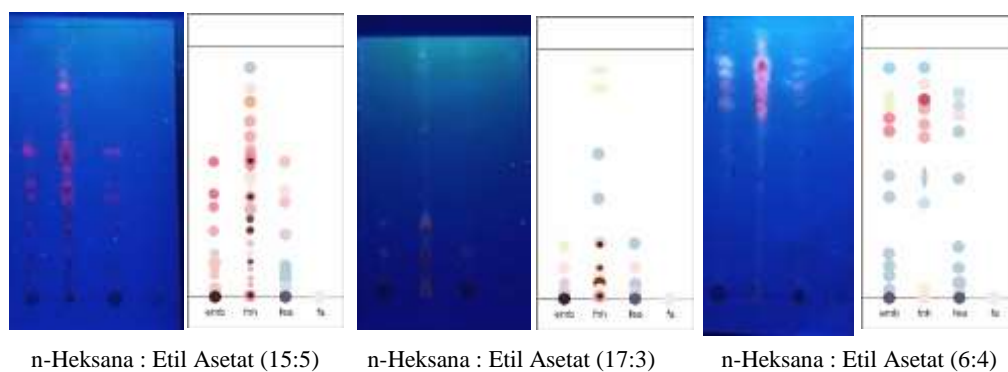


Gambar 4.10 Hasil KLTA senyawa steroid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea), dan fraksi air (fa)

Berdasarkan data Tabel L4.14 ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat diduga mengandung senyawa steroid dengan pola pemisahan yang berbeda, hal ini dapat memperkuat hasil skrining fitokimia. Senyawa steroid akan menghasilkan warna biru dan hijau saat diamati dibawah lampu UV λ 366 nm (Pratiwi, 2014). Sulastry (2010) yang menyatakan bahwa eluen n-heksana : etil asetat pada perbandingan 8:2 merupakan eluen terbaik untuk pemisahan senyawa steroid dari ekstrak dan fraksi daun beluntas.

Hasil pemisahan beberapa variasi eluen pada Tabel L4.18 menunjukkan eluen dengan pemisahan terbaik yaitu n-heksana : etil asetat pada perbandingan 15:5 daripada perbandingan eluen yang lainnya. Jumlah noda yang diduga terpenoid pada perbandingan ini lebih banyak dan tidak berekor sehingga jarak antar noda terlihat jelas. Noda hasil pemisahan dengan eluen yang sama pada

perbandingan 6:4 berekor dan tidak jelas tetapi noda terangkat dengan baik, hal ini dimungkinkan karena aplikasi penotolan kurang sempurna sehingga proses elusi senyawa kurang maksimal. Pola pemisahan eluen dengan perbandingan 17:3 juga menghasilkan jumlah noda yang diduga terpenoid paling sedikit daripada variasi eluen lainnya dan jarak antar noda kurang terpisah dengan jelas, terlihat pemisahan yang kurang baik pada eluen ini karena spot tertahan di bawah. Hasil ilustrasi pola pemisahan terpenoid dengan beberapa variasi eluen pada KLTA ditunjukkan pada Gambar 4.11.

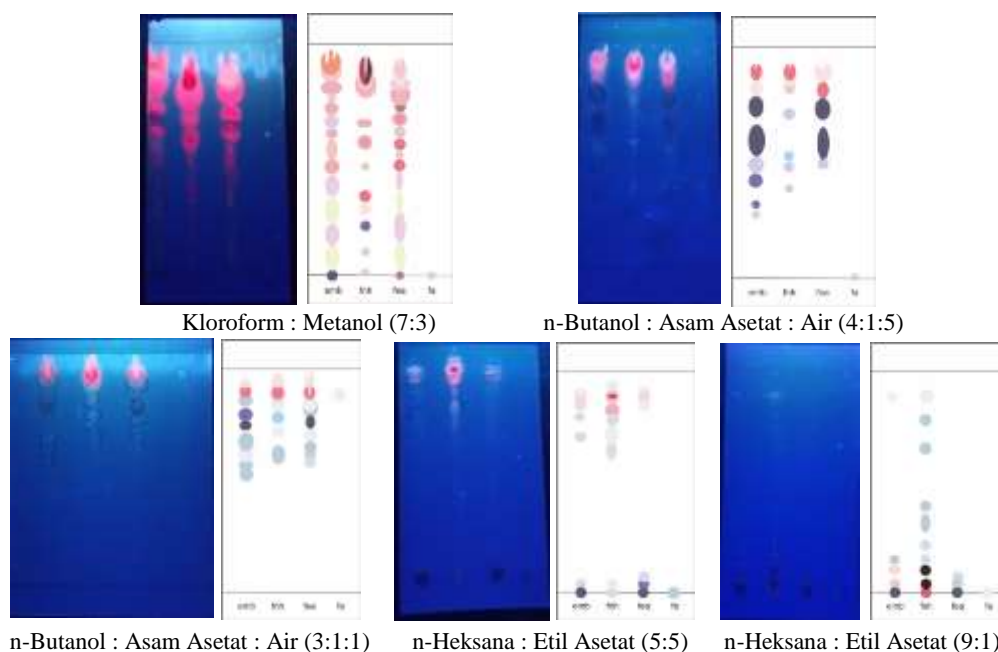


Gambar 4.11 Hasil KLTA senyawa terpenoid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea), dan fraksi air (fa)

Ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat diduga mengandung senyawa terpenoid dengan berbagai macam jenis, hal ini dapat memperkuat hasil skrining fitokimia. Senyawa terpenoid akan menampilkan bercak noda berwarna merah ungu, ungu tua atau merah muda saat diamati dibawah lampu UV λ 366 nm (Maulana, 2018). Masrihanah (2020) menyatakan bahwa eluen n-heksana : etil asetat pada perbandingan 15:5 merupakan eluen terbaik untuk pemisahan senyawa terpenoid dari ekstrak daun Katuk.

Hasil pemisahan beberapa variasi eluen pada Tabel L4.22 menunjukkan eluen dengan pemisahan terbaik yaitu Butanol : asam asetat : air pada

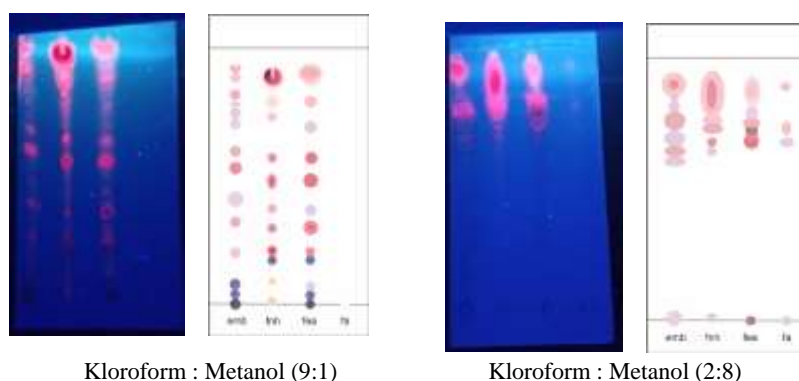
perbandingan 4:1:5 daripada perbandingan eluen yang lainnya. Jumlah noda yang diduga flavonoid pada perbandingan ini lebih banyak dan tidak berekor sehingga jarak antar noda terlihat jelas. Noda pada eluen yang sama dengan perbandingan 3:1:1 menghasilkan warna noda yang kurang jelas dan jarak antar noda terlalu dekat. Pola pemisahan eluen n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 9:1 juga menghasilkan jumlah noda yang diduga flavonoid lebih sedikit daripada variasi eluen lainnya tetapi jarak antar noda terpisah dengan jelas pada fraksi n-heksana. Eluen yang sama pada perbandingan 5:5 menghasilkan jumlah noda terbanyak, tetapi noda yang terbentuk berekor sehingga bentuk spotnya kurang jelas. Hal ini juga ditunjukkan oleh noda hasil pemisahan dengan eluen kloroform : metanol pada perbandingan 7:3 noda yang terbentuk berekor dan tidak jelas meskipun jumlah spot yang dihasilkan lebih banyak daripada eluen yang lain, tetapi mengalami *overlap* dengan noda yang diduga terpenoid.



Gambar 4.12 Hasil KLTA senyawa flavonoid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea), dan fraksi air (fa)

Senyawa flavonoid akan menunjukkan ungu (Rusdi, dkk., 2018), kuning untuk flavon dan flavonol, kelabu untuk katekin dan antosianidin (Markham, 1988), warna merah jingga untuk kalkon dan auron (Robinson, 1995) saat diamati dibawah lampu UV λ 366 nm. Koirewoa (2012) menyatakan bahwa eluen n-butanol : asam asetat : air pada perbandingan 4:1:5 merupakan eluen terbaik untuk pemisahan senyawa flavonoid dari ekstrak daun beluntas.

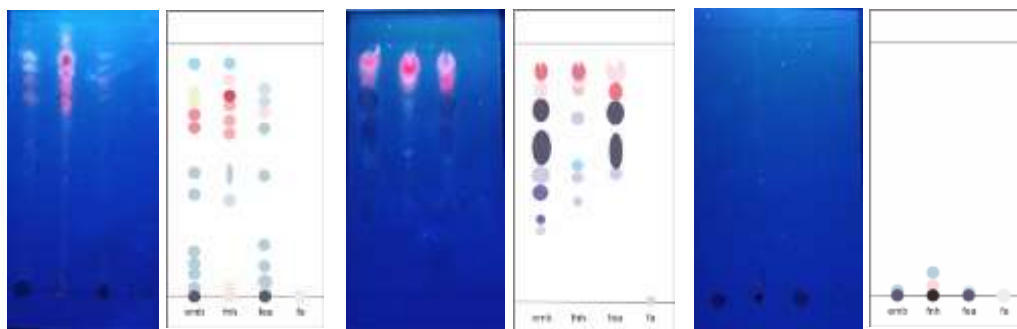
Hasil pemisahan beberapa variasi eluen pada Tabel L4.28 menunjukkan eluen dengan pemisahan terbaik yaitu kloroform : metanol pada perbandingan 9:1 daripada perbandingan eluen yang lainnya. Jumlah noda yang diduga alkaloid pada perbandingan ini lebih banyak meskipun berekor tetapi jarak antar noda terlihat jelas. Noda hasil pemisahan dengan eluen yang sama pada perbandingan 2:8 Noda yang diduga alkaloid paling sedikit daripada variasi eluen lainnya, berekor dan tidak jelas tetapi noda terangkat dengan baik, hal ini dimungkinkan karena aplikasi penotolan kurang sempurna sehingga proses elusi senyawa kurang maksimal. Hasil ilustrasi pola pemisahan alkaloid dengan beberapa variasi eluen pada KLTA ditunjukkan pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13 Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea), dan fraksi air (fa)

Senyawa alkaloid akan menampilkan bercak noda berwarna kuning kemerahan (jingga) (Masfufah, 2016) saat diamati dibawah lampu UV λ 366 nm. Nilai Rf noda yang diduga alkaloid pada ekstrak metanol beluntas yaitu 0,59, fraksi n-heksana yaitu 0,10 dan fraksi etil asetat yaitu 0,19 termasuk dalam kisaran 12 alkaloid yang paling umum yaitu 0,07 – 0,62 (Harborne, 1987). Hasil tersebut didukung oleh Masrihanah (2020) yang menyatakan bahwa eluen kloroform : metanol pada perbandingan 9:1 merupakan eluen terbaik untuk pemisahan senyawa terpenoid dari ekstrak daun Katuk.

Hasil pemisahan beberapa variasi eluen pada Tabel L4.31 menunjukkan eluen dengan pemisahan terbaik yaitu Butanol : asam asetat : air pada perbandingan 4:1:5 daripada perbandingan eluen yang lainnya. Jumlah noda yang diduga tanin pada perbandingan ini lebih banyak dan tidak berekor sehingga jarak antar noda terlihat jelas. Noda hasil pemisahan dengan eluen n-heksana : etil asetat pada perbandingan 6:4 berekor dan tidak jelas tetapi noda terangkat dengan baik, hal ini dimungkinkan karena aplikasi penotolan kurang sempurna sehingga proses elusi senyawa kurang maksimal. Noda hasil pemisahan dengan eluen yang sama pada perbandingan 19:1 noda yang diduga tanin paling sedikit daripada variasi eluen lainnya, spot tertahan dibawah hal tersebut dikarenakan senyawa yang diduga terkandung dalam ekstrak dan fraksi lebih bersifat polar sehingga tidak mengikuti fase gerakanya. Ilustrasi pola pemisahan alkaloid dengan beberapa variasi eluen pada KLTA ditunjukkan pada Gambar 4.13.



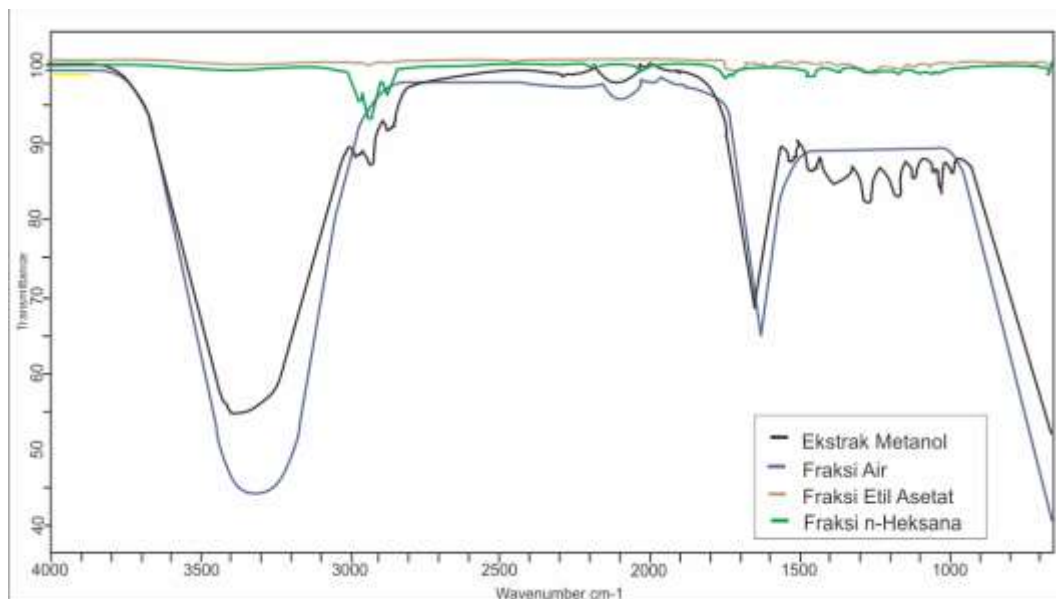
n-Heksana : Etil Asetat (6:4) n-Butanol : Asam Asetat : Air (4:1:5) n-Heksana : Etil Asetat (19:1)

Gambar 4.14 Hasil KLTA senyawa tanin ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea), dan fraksi air (fa)

Pemisahan senyawa tanin menggunakan KLTA akan menghasilkan bercak noda berwarna ungu atau ungu kehitaman (Jannah, 2018) saat diamati dibawah lampu UV λ 366 nm. Hasil yang diperoleh didukung oleh Mabruroh (2015) yang menyatakan bahwa eluen n-butanol : asam asetat : air pada perbandingan 4:1:5 merupakan eluen terbaik untuk pemisahan senyawa tanin dari ekstrak daun Rumput Bambu. ^

4.8 Identifikasi Gugus Fungsi menggunakan FT-IR

Identifikasi menggunakan spektrofotometer FT-IR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi dari ekstrak dan fraksi berdasarkan serapan yang dihasilkan. Prinsip analisa didasarkan pada interaksi antara energi dengan molekul yang menyebabkan terjadinya transisi akibat adanya vibrasi pada setiap gugus fungsi yang memiliki tipe ikatan berbeda, sehingga memunculkan serapan IR yang khas. Spektra hasil FT-IR fraksi dan ekstrak daun beluntas ditunjukkan pada gambar 4.15.



Gambar 4.15 Spektra hasil FT-IR fraksi dan ekstrak daun beluntas

Tabel 4.4 Interpretasi spektra FT-IR ekstrak metanol beluntas (emb), fraksi n-heksana (fnh), fraksi etil asetat (fea), dan fraksi air (fa)

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)				Range Pustaka	Jenis Vibrasi
EMB	FA	FEA	FNH		
3365,8	3334,1	-	-	3550-3200 ^a	O-H <i>stretching</i> (alkohol)
2957,6	-	2983,7	2957,6	3000-2840 ^a	C-H <i>stretching</i> (alkana)
2926,0	-	2927,8	2924,1	2935-2915 ^c	C-H <i>stretching</i> (metilen)
2853,3	-	2864,5	2857,0	2962-2853 ^a	C-H <i>stretching</i> (alkil)
2000-1750	-	2000-1750	2000-1750	2000-1650 ^b	<i>Overtone</i> aromatic
1636,3	1636,3	1651,2	-	1680-1620 ^c	C=C <i>stretching</i> (alkena)
1448,1	-	1448,1	1459,3	1480-1440 ^b	C-H pada CH ₂ <i>bending</i>
1377,3	-	1373,5	1377,3	1395-1365 ^b	C-H pada CH ₃ <i>bending</i>
1272,9	-	-	1261,7	1350-1260 ^c	O-H <i>in plane bending</i>
1164,8	-	1161,1	1162,9	1300-1000 ^a	C=O <i>stretching</i> (ester)
1116,3	-	1114,5	1082,8	1124-1000 ^a	C-O <i>stretching</i> (alkohol 2°)
1015,7	-	1047,4	1036,2	1055-1000 ^c	>C-H- (vibrasi cincin sikloheksana)
-	-	682,1	661,6	1000-650 ^a	C-H <i>out of plane bending</i>

Ket: a = (Shriner, dkk., 2004); b = (Socrates, 1994); c = (Coates, 2000); d = (Palleros, 2000)

Spektrum inframerah dari fraksi air dan ekstrak metanol daun beluntas hasil hidrolisis tampak adanya serapan melebar pada bilangan gelombang 3334,1 dan

3365,8 cm^{-1} dengan intensitas kuat sebagai vibrasi ulur –OH. Serapan tersebut menunjukkan bahwa terdapat gugus –OH yang terikat pada gugus alifatik dan aromatik akibat dari vibrasi ikatan hidrogen intramolekul (Sastrohamidjojo, 2001). Vibrasi tekuk C-O alkohol sekunder ditunjukkan pada spektra hasil FT-IR dari fraksi n heksana, etil asetat dan ekstrak metanol daun beluntas pada daerah 1082,8; 1114,5; 1116,3 cm^{-1} serta vibrasi pada bilangan gelombang 1261,7 dan 1272,9 cm^{-1} yang merupakan serapan O-H alkohol *bending* ke dalam bidang.

Pita serapan pada daerah 2957,6 dan 2983,7 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatik *stretching* untuk gugus alkana. Bilangan gelombang 2924,1; 2926,0; dan 2927,8 cm^{-1} juga menunjukkan adanya gugus metilen, diperkuat oleh serapan pada daerah 2853,3; 2857,0; dan 2864,5 cm^{-1} diduga merupakan gugus alkil. Gugus fungsi khas germinal dimetil muncul pada daerah serapan 1373,5 ; 1377,3 cm^{-1} dan 1448,1; 1459,3 cm^{-1} , didukung oleh serapan pada bilangan gelombang 682,1 dan 661,6 cm^{-1} karena adanya C-H *out of plane bending*. Adanya vibrasi cincin sikloheksana pada bilangan gelombang 1015,7; 1036,2; dan 1047,4 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1636,3 dan 1651,2 cm^{-1} menunjukkan ikatan C=C aromatik yang diperkuat dengan adanya serapan lemah (*overtone*) pada daerah 2000-1750 cm^{-1} . Gugus fungsi penting lainnya yaitu gugus karbonil ditunjukkan pada bilangan gelombang 1161,1; 1162,9; dan 1164,8 cm^{-1} .

Hasil Spektra FT-IR fraksi dan ekstrak ini mendukung dugaan senyawa aktif yang terkandung dalam daun beluntas sesuai dengan hasil uji fitokimia dan pemisahan menggunakan KLTA. Perbedaan puncak spektra yang muncul pada masing-masing fraksi dan ekstrak terlihat dari Gambar 4.15 yang merupakan penggabungan hasil analisis FT-IR, hal ini diduga karena adanya perbedaan

struktur senyawa aktif yang terkandung pada setiap sampel. Hasil spektra FT-IR fraksi n-heksana dan etil asetat terlihat banyak puncak sehingga antara puncak satu dengan yang lain sangat rapat dan lemah dibandingkan dengan ekstrak metanol dan fraksi air yang menunjukkan adanya puncak yang melebar dan intensitasnya tajam. Analisis FT-IR mode reflektansi (ATR) pada penelitian ini menyebabkan tidak semua gugus fungsi yang terdapat pada sampel mengalami vibrasi. Sampel tidak dikenai sinar laser secara langsung karena sinar dibelokkan atau dipantulkan, sehingga gugus fungsi dengan intensitas besar saja yang mengalami vibrasi dan memunculkan puncak/peak karena intensitas sinar refleksi tidak sebesar intensitas sinar pada transmisi atau analisis FT-IR dengan menggunakan KBr (Sulistiyani dan Huda, 2018).

4.9 Pemanfaatan Daun Beluntas dalam Perspektif Agama Islam

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan daun beluntas telah dilakukan dan mendapatkan hasil bahwa beluntas merupakan salah satu alternatif tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian ini, fraksi air, etil asetat, n-heksana dan ekstrak metanol hasil hidrolisis daun beluntas memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik karena menunjukkan nilai EC_{50} yang rendah secara berturut-turut sebesar 9,02; 0,39; 15,64; dan 1,52 ppm. Hal ini membuktikan bahwa daun beluntas dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat herbal karena kemampuannya menangkal radikal bebas yang dapat membahayakan kesehatan tubuh manusia. Sebagaimana firman Allah Swt. dalam surat al Dukhaan ayat 38:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لِعَيْبِنَ ﴿الدُّخَانُ : ٣٨﴾

“Dan tidaklah Kami bermain-main menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya.”

Allah Swt. menjelaskan bahwa langit dan bumi beserta segala isinya tidaklah diciptakan dengan sia-sia atau secara kebetulan tanpa maksud dan tujuan, tetapi semuanya itu diciptakan sesuai dengan rencana dan kehendak Allah Swt. Apabila diperhatikan dengan seksama setiap kehidupan yang ada di bumi dan segala kejadian di langit tentulah akan diketahui baik makhluk yang bernyawa maupun yang tidak bernyawa dari berbagai macam tingkatan, dari tingkat terendah sampai dengan tingkat yang tertinggi, masing-masing faedahnya, ada ketentuan-ketentuan yang berlaku baginya, dan ada pula waktu yang ditentukan untuk kehidupannya (Al Qarni, 2008). Sebagai contoh Allah Swt. menciptakan daun beluntas memiliki banyak manfaat yang salah satunya dalam bidang kesehatan, yaitu sebagai obat yang merupakan cara untuk menyembuhkan penyakit, berdasarkan hadist nabi Muhammad saw. yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari dalam shahihnya, dari sahabat Abu Hurairah bahwasanya nabi bersabda:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

“Tidaklah Allah Ta’ala menurunkan suatu penyakit, kecuali Allah Ta’ala juga menurunkan obatnya.”

Hadist tersebut menjelaskan bahwa Allah Swt. maha adil memberikan suatu penyakit beserta obatnya dan penyakit tersebut akan sembuh sesuai kehendak Allah Swt. (Fattah, 2010). Melalui hadist ini kita sebagai makhluk Allah Swt. dianjurkan untuk senantiasa berserah diri apabila menderita suatu penyakit dengan tetap berusaha dan ikhtiar kepadaNya. Salah satu usaha yang dapat dilakukan adalah dengan mencari obat yang berasal dari tanaman yang berada di alam

sekitar kita dan membuktikannya dengan meneliti kegunaan dan kandungannya. Beluntas sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional yaitu untuk menghilangkan bau badan dan mulut, mengatasi kurang nafsu makan, mengatasi gangguan pencernaan pada anak, menghilangkan nyeri pada rematik, nyeri tulang dan sakit pinggang, menurunkan demam, hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa fitokimia dalam daun beluntas (Nurhalimah N, dkk. 2015).

Makhluk Allah Swt. yang beraneka ragam dan tidak terhitung banyaknya itu merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah yang dapat dijadikan bahan pemikiran bagi orang yang ingin mencari kebenaran. Dengan memperhatikan tanda-tanda kekuasaanNya itu, orang dapat mengenal dan mengetahui betapa agung dan betapa luas ilmu penciptanya. Manusia harus mempelajari banyak ilmu pengetahuan yang akan menuntunnya mendapatkan obat-obatan yang diperlukan. Manusia tidak akan mendapatkan tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat tanpa adanya usaha dalam mengembangkan ilmu pengetahuan. Disisi lain, al-Quran juga menganjurkan manusia untuk menuntut ilmu. Sebagaimana yang dijelaskan dalam surat az Zumar ayat 9:

أَمْ مَنْ هُوَ قَائِمٌ أَنْاءَ اللَّيْلِ سَاجِدًا وَقَائِمًا يَحْذَرُ الْآخِرَةَ وَيَرْجُوا رَحْمَةَ رَبِّهِ قُلْ هَلْ يَسْتَوِي الَّذِينَ يَعْلَمُونَ وَالَّذِينَ لَا يَعْلَمُونَ إِنَّمَا يَتَذَكَّرُ أُولُوا الْأَلْبَابِ ؕ (الزُّمَر: ٩)

“(Apakah kamu orang musyrik yang lebih beruntung) ataukah orang yang beribadah pada waktu malam dengan sujud dan berdiri, karena takut kepada (azab) akhirat dan mengharapkan rahmat Tuhannya? Katakanlah, Apakah sama orang-orang yang mengetahui dengan orang-orang yang tidak mengetahui? Sebenarnya hanya orang yang berakal sehat yang dapat menerima pelajaran.”

Menurut al Jazairi (2007) maksud lafadz ulul albab adalah orang-orang yang mempunyai akal dan dengan akalnya mereka mampu memahami tanda-tanda ciptaanNya. Ciri-ciri orang yang berakal adalah memikirkan kekuasaan Allah Swt. dalam berbagai keadaan, termasuk melakukan pengkajian ilmu pengetahuan melalui penelitian. Salah satunya informasi yang didapatkan dari penelitian ini adalah potensi daun beluntas sebagai antioksidan yang dapat digunakan untuk beberapa kepentingan manusia salah satunya selain sebagai tanaman pagar yang hanya dapat menghiasi sekitar rumah, tetapi juga dapat dijadikan sebagai obat herbal karena kandungan senyawa aktif yang ada di dalamnya. Beluntas mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu diantaranya terdapat steroid, terpenoid, alkaloid, tanin, flavonoid, asam askorbat, dan saponin. Senyawa aktif tersebut yang mampu bertindak sebagai penangkal radikal bebas yang berada di dalam tubuh. Radikal bebas tersebut yang dapat memicu adanya suatu penyakit. Bentuk rasa syukur kita sebagai manusia yang berakal dan mengetahui ilmu tersebut maka harus kita manfaatkan dengan sebaik mungkin sehingga dapat diaplikasikan kegunaannya dengan maksimal tidak hanya untuk diri sendiri, melainkan dengan memberikan informasi atau mengeksplorasi manfaatnya kepada orang lain.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Aktivitas antioksidan fraksi air, etil asetat, n-heksana dan ekstrak metanol hasil hidrolisis daun beluntas secara berturut-turut sebesar 9,02; 0,39; 15,64; dan 1,52 ppm. Aktivitas antioksidan tertinggi daun beluntas adalah fraksi etil asetat, sedangkan aktivitas antioksidan terendah daun beluntas adalah fraksi n-heksana.
2. Hasil identifikasi fitokimia fraksi etil asetat daun beluntas dengan aktivitas antioksidan terbaik menunjukkan adanya senyawa steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, tanin, dan asam askorbat, dan hasil identifikasi menggunakan FT-IR menunjukkan adanya serapan gugus fungsi $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$ dan $\text{C}-\text{O}$.

5.2 Saran

Penelitian lanjutan sebagai upaya untuk mendapatkan senyawa aktif yang lebih spesifik dan murni perlu dilakukan. Salah satunya melakukan pemisahan terhadap fraksi etil asetat yang merupakan fraksi terbaik pada aktivitas antioksidan daun beluntas dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP), Kromatografi Kolom atau metode pemisahan lainnya dan identifikasi lebih lanjut dengan instrumen LC-MS/MS dan ^1H NMR untuk mengetahui struktur senyawa yang berhasil diisolasi secara lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Penerbit Karunika.
- Addisu, S. dan A. Assefa. 2016. Role of plant containing saponin on livestock production; *A Review Advances in Biological Research*. 10 (5): 309-314.
- Ahemd S. A., dan E. M. Kamel. 2013. Phenolic constituents and biological activity of the genus *pluchea*. *Der Pharma Chemica* 5(5): 109-114.
- Ali, F., Ferawati, dan Risma, A. 2013. Ekstraksi Zat Warna Dari Kelopak Bunga Rosella (Study Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat Dan Asam Sitrat). *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. 19 (1).
- Al-Jauziyah. 2008. *Ath-thibbun Nabawi, Pengobatan Cara Nabi Muhammad SAW.* Surabaya: Arkola.
- Al-Jazairi, S. A. (2007). *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar Jilid 2*. (M. A. Hatim, & A. Mukti, Penerj.) Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Al Qarni. A. 2008. *Tafsir al Muyassar*. Jakarta: Qisthi.
- Al Qurtubi, Syaikh Imam, "Al Jami" Al Ahkâm Al Qur'an" diterjemahkan Muhammad Ibrahim Al Hifnawi dan Muhammad Hamid Utsman, *Tafsir al-Qurthûbi* Jilid III. Jakarta: Pustaka Azam, 2008.
- Amarowicz, R., Naczek, M., Shahidi, F., 2000, Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls, *JAOCs*, 77, 957- 961.
- Amic, D. Davidovic-Amic, D. Besić, D. dan Trinajstić, N. 2003., Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatia Chemical Acta* 76 : 55–61.

Ath-Thabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir, Jami' Al- Bayan an Ta'wil Ayi Al-Qur'an, penerjemah: Abdul Somad, Yusuf Hamdani, dkk, jilid 3, 12, 13, 21, Jakarta: Pustaka Azzam, 2008.

Andarwulan, N., Kusnandara, F., dan Herawati, D. 2011. *Analisis Pangan*. Jakarta : Kencana.

Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B., dan Wijaya, H. 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*. 1231-1235.

Anozie, A. N. dan Bakare, A. R. 2004. *Evaluation of Cooking Energy Cost, Efficiency, Impact on Air Pollution and Policy in Nigeria*.

Ardiansyah, Nuraida, L. dan Andarwulan, N. 2003. Aktivitas antimikroba daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XIV(2):90-97.

Asih, A. R., Ratnasaari, K., Swardana, B. I. 2012. Isolasi dan identifikasi senyawa golongan flavonoid dari madu kelengkeng (*Nephelium longata* L.), *Skripsi*. Universitas Udayana.

Astuti, M. D., Maulana, A., dan Kuntowati, E. M. Isolasi Steroid dari Fraksi n-Heksana Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.). dalam *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya, 2014, pp. B-9 - B-12 .

Auliawan, R., dan Cahyono, B. 2014. Efek Hidrolisis Daun Iler (*Coleus scutellarioides*) Terhadap Aktivitas Inhibisi Enzim α -glukosidase. *Jurnal Sains dan Matematika*. Vol. 22 (1): 15-19.

Auterhoff, H., dan Kovar, K.A. 1987. *Identifikasi Obat*. Bandung: ITB.

Babbar, Neha. 2015. An introduction to alkaloids and their applications in pharmaceutical chemistry. *The Pharma Innovation Journal*. 4(10): 74-75, ISSN: 2277- 7695.

- Biswas, R., Dasgupta, A., Mitra, A., Roy, S.K., Dutta, P.K., Achari, B., Dastidar, S.G. dan Chatterjee, T.K. 2005. Isolation, purification and characterization of four pure compounds from the root extract of *Pluchea indica* L. and the potentiality of the root extract and the pure compounds for antimicrobial activity. *European Bulletin of Drug Research* 13: 63-70.
- Brodowska, K. M. 2017. Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*. ISSN 2449-8955.
- Burrell, R. C. dan Walter, E. D., 1934. A Saponin from The Soy Bean. *The Journal of Biological Chemistry*, 1(2) : 110-114.
- Cacic M, Molnar M, Sarkanj B, Has-Schon E, Rajkovic V. 2010. *Synthesis and antioxidant activity of some new coumarinyl- 1,3-thiazolidine-4- ones. Molecules*. 15: 6795-6809.
- Cadenas, E. 1997. *Basic mechanism of antioxidant activity*. *Biofactor*. 6: 391-397.
- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Bandung: Bumi Aksara.
- Cai, Li. 2014. Thin Layer Chromatography. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques* 6.3.1-6.3.18. DOI: 10.1002/9780470089941.et0603s08.
- Carrey, F., dan Sundberg, R., 2007. *Advanced Organic Chemistry*. London : Springer Science+Business Media, pp. 140.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y. dan Omar, M. 2007. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etilingera* species (*Zingiberaceae*) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry* 104: 1586-1593.
- Chandra, Boy., Zulharmita, Putri, Winda Dian. 2019. Penetapan Kadar Vitamin C Dan B1 Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus Lemairel* (Hook.) Britton & Rose) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 11, No. 1

- Chewchinda, S. B. Vongsak. 2018. Simultaneous HPTLC quantification of three caffeoylquinic acids in *Pluchea indica* leaves and their commercial products in Thailand. *Revista Brasileira de Farmacognosia*.
- Coates, J. 2000. *Interpretation of Infrared Spectra: A Practical Approach*. In: Meyers, R.A., Ed., *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 10881-10882.
- Conforti, F. Silvio, S., Mariangela, M., Federica, M., Giancarlo, S., Dimitar, U., Aurelia, T., Francesco, M. 2009. The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol contents. *Food Chemistry Elsevier*. Vol. 112. Issue 3 : 587-594.
- Cowan, M. M. 1999. Plant product as antimicrobial agents. *Journal of Microbiology Reviews* 12(4) : 564-582.
- Cuppett, S., Schnepf M, Hall, C. 19997. Natural antioxidants- are they a reality. In: *Shahidi F, Editor. Natural Antioxidants*. AOCS Press: Champaign.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri*, hal 1-37, Padang: Andalas University Press.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Jakarta : Puspa Swara.
- Damanik, S.E. 2019. *Buku Ajar Pengelolaan Sumber Daya Alam Dan Lingkungan*. Sidoarjo : Uwais Inspirasi Indonesia.
- De Padua, L. S., N. Bunyapraphatsara and R. H. M. S. Lemmens. 1999. *Plant Resources of South East Asia. Medical and Poisonous Plant*. Printed in Bogor Indonesia, Backhuys Publisher, Leiden, the Netherlands.
- Decker, E. A., Warner K., Richards M.P, and Shahidi F. 2005. Measuring antioxidant effectiveness in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4303- 4310.

- Dehkharghanian, M., Adenier, H. dan Vijayalakshmi, M.A. 2010. Analytical Methods study of flavonoids in aqueous spinach extract using positive electrospray ionisation tandem quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry* 121: 863–870.
- Dinasti, A. R. 2016. Isolasi dengan KLTP dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Steroid Fraksi Etil Asetat Mikroalga *Chlorella sp.* *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Dirar, A. L., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., Devkota, H. P. 2018. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*. SAJB-02073.
- Donorwati, I., dan Fidhiani, D. D. 2020. Pengamatan hasil olahan daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap sifat fisika dan kimianya. *TEKNOLOGI PANGAN*. Volume 11, No. 2, (2020), Halaman 118-134. p-ISSN: 2087-9679, e-ISSN: 2597-436X.
- Duerbeck, N.B., Dowling, D.D., Duerbeck, J.M., 2016. Vitamin C: Promises Not Kept. *Obstet. Gynecol. Surv.* 71, 187–193.
- Dugas Jr., A.J., Castaneda-Acosta, J., Bonin, G.C., Price, K.L., Fischer, N.H., Winston, G.W., 2000, Evaluation of The Total Peroxyl Radical-Scavenging Capacity of Flavonoids: Structure-Activity Relationship, *J. Nat. Products.*, 63, 327-331.
- Effendy, R. 2010. *Pendidikan Lingkungan, Sosial, Budaya, dan Teknologi*. Bandung: CV Maulana Media Grafika.
- Ergina, Nuryanti, S. dan Pursitasari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim.* 3(3): 165-172, ISSN 2302-6030.
- Fattah, A. B., 2010. *Shahih Thibbun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Jakarta : Pustaka Imam Ahmad.

- Febriani, D. M. 2015. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, Bandung, 478.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. Kimia Organik Edisi Ketiga. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Fitriyani, A., dkk. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* ruiz % pav) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. 16 (1), 34-42.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2012, *Analisis Obat secara Spektroskopi dan Kromatografi*, 70-72, Yogyakarta, Pustaka Pelajar.
- Gordon, M. H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro*. Dalam B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science, London.
- Gunawan, I. W. G., Gede B. dan Sutrisnayati. 2004. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthusniruri* Linn). *Jurnal Kimia*: 31-39 ISSN 1907-9850.
- HAM, Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Hamilton, R. J., dan Allen, J. C. 1994. *Rancidity in Foods*. London: Blackie Academic and Professional.
- Hammado, N., dan Illing, I. 2018. Identifikasi Senyawa Bahan Aktif Alkaloid pada Tanaman Lahuna (*Eupatorium odoratum*). *Jurnal Dinamika*. halaman 1-18, ISSN 2087 – 7889. Vol. 04. No. 2.
- Handoko, D. S. P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis. *Jurnal*. Jember: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember. SIGMA. Vol. 9. No. 1. ISSN: 1410-5888.

- Handoyo, L. D.Y., dan Pranoto, M.E. 2020. Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*. 1, 2, 45-54.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Hlm. 1-8. Bandung: Penerbit ITB.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode fitokimia*, Padmawinata, K. dan Soediro, I. (penerjemah), Bandung: Penerbit ITB.
- Harper, M. K., T. S. Bugni, B. R. Copp, R. D. James, B. S. Lindsay, A. D. Richardson, P. C. Schnabel, D. Tasdemir, R. M. Van Wagoner, S. M. Verbitski dan C. M. Ireland. 2001. Introduction to the chemical ecology of marine natural products. *In : Marine Chemical Ecology* (James B. McClintock & Bill J. Baker Eds.) CRC Press USA. pp. 3-29.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. New York: The McGraw- Hill Comp.
- Hayati, E. K., dan Halimah, N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethally Leach Anting-anting (*Achalypha indica* Linn.) Plant Ekstract. *ALCHEMY* Vol. No. 2, hal 53-103.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Posdakarya.
- Hernani, Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Heo, S.J., Cha, S.H., Lee, K.W., Cho, S. K., & Jeon, Y.J. 2005. Antioxidant Activities of *Chlorophyta* and *Phaeophyta* from Jeju Island. *Algae* . Vol 20(3): pp 251-260.
- Houghton, P.J. dan Raman, A. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Chapman andHall, UK.

- Huang, C.L., Liao, W.C., Chan, C.F. dan Lai, Y.C. (2010). Optimization for extraction anthocyanin from purple sweet potato roots using response surface methodology. *Journal of Taiwan Agricultural Research*: 143-150.
- Illing, I., W. Safitri, dan Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika* Vol. 08. No.1 : 66-84I.
- Imani, A. K. F. 2008. *Tafsir Nurul Quran*. Jakarta: Al-Huda.
- Ingold, K. U. 1999. Inhibition of autoxidation.in *Oxidation of Organic Compounds*. American chemical society, ACS Publications. , New Orleans, LA. 22-26.
- Irianti, T., dkk. 2016. Pengaruh Hidrolisis Asam-Basa Terhadap Aktivitas Penangkapan Radikal 2-2' Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Fraksi Air Ekstrak Etanolik Buah Talok (*Muntinga calabura L.*). *Trad. Med. Jurnal*. Vol. 21. ISSN : 1410-5918.
- Jannah, M dan Arum, M. 2018. Pengaruh Pendampingan Osoc Terhadap Kepuasan Ibu Hamil Trimester III. *Jurnal Kesehatan Prima*, 60- 66.
- Jones, W.P., Kinghorn, A.D. (2006). *Extraction of Plant Secondary Metabolites*. In: Sharker, S.D. Latif Z., Gray A.L, eds. *Natural Product Isolation*. 2nd edition. New Jersey : Humana Press.
- Julizan, N., Maemunah, S., Dwiyantri, D., Al Anshori, J. 2019. Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan dengan Metode DPPH. *Kandaga*. Vol. 1. No. 1.
- Jun, M., Fu H. Y., Hong, J., Wang, X., Yang, C. S., Ho, C. T., 2006, Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobate ohwi*). *J of Food Science*. 2006; 2117- 22.
- Katrin, dan Bendra, Atika. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq. *Pharm Sci Res* ISSN 2407-2354.

- Khodaria P. 2013. *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun beluntas (Pluchea indica L.) Terhadap Pertumbuhan Aeromonas hydrophila*. Universitas Muhammadiyah Purwokerto; Purwokerto.
- Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI Press.
- Kiswandono, A. A. 2011. Skrining Senyawa Kimia dan Pengaruh Metode Maserasi dan Refluks pada Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) terhadap Rendemen Ekstrak yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa* Vol. 1, No. 2, 126 – 134.
- Koirewoa, Y.A., F. Fatimawali & W. Wiyono. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L). (skripsi). FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Kraus, T. E. C., Dahlgren, R. A., Zasoski, R. J. 2003. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems – a review. *Plant Soil* 256, 41–66.10.1023/A:1026206511084.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., Yusamsutin,, Azizah, dan Marwati, D. S., 2006, Isolasi Senyawa Antrakuinon dari Cassia multijuga (Leguminosae), *J. Kim. Ind.* 1: 17-21.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., Kurnia, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kusuma, A. F. 2013. Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun beluntas (*Pluchea indica* Less) Dengan Metode DPPH (2,2-dyphenyl-1-picrylhydrazyl). *Skripsi*. Prodi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Kusumastuti, Ari. 2011. *Pengenalan Pola Gelombang Khas dengan Interpolasi*. UIN Malang, Vol. 2. No. 1.
- Lai, P., Li, K.Y., Lu, S. dan Chen, H.H.. 2009. Analytical methods phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran. *FoodChemistry* 117: 538–544.

- Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu, S. dan Liu, J. 2011. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry* 126:261–269.
- Luger, P., Weber, M., Dung, N.X., Ngoc, P.H., Tuong, D.T. dan Rang, D.D. 2000. The crystal structure of hop- 17(21)-en-3 β -yl asetat of *Pluchea pteropoda* Hemsl. from Vietnam. *Crystal Res Technology* 35(3) : 355-362.
- Mabruroh, A. I. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* Brongn) dan Identifikasinya. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Maesaroh, K., Kurnia, D. dan Anshori, J. A. 2018. *Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin*. *Chimica et Natura Acta*. Vol. 06 No. 02.
- Mardiyah, U. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucaema spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mark, H. F. 2013. *Encyclopedia Of Polymer Science and Technology, Concise*. John Wiley and Sons. ISBN 0470073691, 9780470073698.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Terjemahan Kosasih Padmawinata*. Bandung: ITB.
- Marliana, E., dan Saleh, C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari siceraria* (Moliana) Standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*. vol. 8, no. 2, pp. 63-69.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium*

- edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31. ISSN: 1693-2242.
- Marsasi, B., Yuwono, dan Salni. 2019. Perbandingan antara Pemberian Fraksi Daun Beluntas (*Pluchea indica* Lees) dan Ketokonazol Secara Invitro Terhadap *Candida Albicans*. *Biomedical Journal of Indonesia*. Vol 5, No. 1.
- Marxen, K., Vanselow K.H., Lippemeier S., Hintze R., Ruser A. dan Hansen U.P. 2007. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors* 7: 2080-2095.
- Masfufah, Nur Laily. 2016. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid dari Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) pada Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Malang.
- Masrihanah, Atika. 2020. Uji aktivitas antioksidan ekstrak ultrasonik air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun katuk (*Sauropus androgynus l.merr*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Maulana, M. 2018. Profil komatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina eristi*. L) berdasarkan variasi pelarut. *Skripsi*.
- Maulida, R dan Guntarti, A. 2015. Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.) Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Kandungan Total Antosianin. *Pharmaciana*. Vol. 5 No. 1 : 9-16.
- McClements, D. J., dan Decker, E. A. 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of Molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science* 65(8): 1270-82.
- Miroslav, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. New York : Planum Publishing Corporation dan SNTC Publishers of Technical Literatur.
- Mirwan, Agus. 2013. Keberlakuan Model HB-GFT Sistem n-Heksana – Mek – Air pada Ekstraksi Cair-cair Kolom Isian. *Konversi*. Vol. 2. No. 1.

- Mishra, Rojita, dan Bisht, S. S. 2011. Antioxidants and their characterization. *Journal of Pharmacy Research*. 4(8), 2744-2746.
- Molyneux, P. 2003. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. Institute of Food Research Colney, Norwich, United Kingdom. Vol 26(2): 211-219.
- Muchtadi T. R. 1988. Teknologi Pemasakon Ekstrusi. Bogor: PAU Pangan dan Gizi. IPB.
- Mursalim, N. A. 2017. Efektivitas Ekstrak Daun beluntas (*Pluchea Indica* Linn) Sebagai Larvasida *Aedes aegypti* Instar III. *Skripsi*. Jurusan Kesehatan Masyarakat. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Nafisah, Minhatun dan Tukiran. 2017. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Kloroform Daun Tanaman Beluntas (*Pluchea Indica* L.). *UNESA Journal Of Chemistry*. Vol. 6. No. 2.
- Ngo, T.V., Scarlett, C.J., Bowyer, M.C., Ngo, P.D., Vuong, Q.V., 2017. Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. *Journal of Food Quality* 2017, 1–8.
- Noridayu F, dkk. 2011. Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of *Pluchea indica* L.. *International Food Research Journal*, 18(3): 925-929.
- Nurhalimah, N., dkk. 2015. Efek Antidiare Ekstrak Daun beluntas pada Mencit *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(3): 1083-1094.
- Nyström L, Achrenius T, Lampi AM, Moreau RA, Piironen V. 2007. A comparison of the antioxidant properties of steryl ferulates with tocopherol at high temperatures. *Food Chemistry*; 101 : 947–954.
- Palleros, D. R. 2000. *Experimental Organic Chemistry*. New york : John Wiley and Sons.

- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. vol. 5. e47. page 1 of 15.
- Parwata, I. M. O. A., Wiwik , S. R. dan Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri pada Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*. ISSN: 1907-9850. Vol. 3(1): 7-13.
- Poedjiadi, A. 2012. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Pokorny, J., Yanishlieva N, Gordon M. 2001. *Antioxidants in Food Practical Applications*. New York : Woodhead Publishing Limited.
- Pozo, O. J., Eenoo, P. V., Deventer, K. Delbeke., F. T. 2008. Detection and Characterization of Anabolic Steroids in Doping Analysis by LC-MS. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 27. No. 8.
- Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Journal of Analytical Chemistry*. Medallion Laboratories: Analytical Progress. 19(2):1-4.
- Pratama, N. R., Widarta, I. W. R., dan Darmayanti, L. P. T. 2017. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi dengan Metode Soxhletasi terhadap Aktivitas Antioksidan Minyak Biji Alpukat. *Science Journal of Food Technology*. Vol.4. No, 2, 85-93.
- Prayoga, G. 2013. Fraksinasi, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* Lour). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia.
- Putri, Warditiani, dan Larasanti. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*. ISSN 2622-4607.
- Purwatiningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Keong Matah Merah (*Cerithidea obtusa*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 17 (1).

- Qalb, B. M. A. N., Djangi, J. dan Muhaedah. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Tumbuhan Iler (*Coleus scutellarioides*, Linn. Benth). *Journal Chemica*. Vol. 18. Hal: 48-55.
- Raharjo, I., dan S. F. A. J. Horsten. 2002. *Pluchea indica* in: *Plant Resources of South East Asia No 12 (2)*. JLCH van Valkenburg and N Bunyapraphatsara. Bogor Indonesia: 441-443.
- Rahayu, D. dan Hastuti, S. D. 2009. Stabilitas Saponin Sebagai Antibiotik Alami Hasil Isolasi Gel Daun Aloe Berbanding Miller pada Variasi Suhu dan Lama Simpan. *Jurnal*. Malang: Jurusan Perternakan Fakultas Perternakan-Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahayu, D. S., Dewi, K., dan Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrilhidrazil (DPPH). *Kimia FMIPA Universitas Diponegoro*.
- Ramdan, Giyan. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari ekstrak Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dan Uji Aktivitas Inhibisi Terhadap Enzim P_fMQO. *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Farmasi. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Reische, D. W., Lillard, D. A., Eitenmiller, R. R. 1998. *Antioxidants*. In *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, 2nd ed.; Akoh, C. C., Min, D. B. , Eds.; Marcel Dekker: New York, pp 489-516.
- Rizkia, Putri. 2014. Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70%, Ekstrak dan Isolat Senyawa Flavonoid dalam Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Rohman, A., dan Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.). *J Agritech*. Vol. 25. No. 3: 131-136.

- Rosyda, A. I. dan Ersam, T. 2009. Peningkatan Kualitas Kayu (*Instensia bijuga*). Kompleksasi Logam Cu (II), Fe (III), dan Zn (II) oleh Senyawa Tanin. *Prosiding Kimia*. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh November.
- Ruan, Y, Z Li, J Yan, P Huang, H Yu, L Han, Y Zhang, T Wang. 2018. Bioactive constituents from the aerial parts of *Pluchea indica* L.. *Molecules* 23: 1-11.
- Rukmiasih. 2011. Penurunan bau amis (*off-odor*) daging itik lokal dengan pemberian daun beluntas (*Pluchea indica Less*) dalam pakan dan dampaknya terhadap performa. *Disertasi*. Bogor : Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Rusdi, N. K., Hikmawanti, N. E., Maifitrianti, Ulfah, Y. S. dan Annisa, A. T. 2018. Aktivitas Afrodisiaka Fraksi dan Ekstrak Etanol 70% Daun Katuk (*Souropus androgynous* L. Merr) pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*. Vol. 5. No. 3. 123-132.
- Sa'adah, L. 2010. Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Safitri, I., Nuria, M. C., Puspitasari, A. D. 2018. Perbandingan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Inovasi Teknik Kimia*. Vol. 3, No. 1, Hal. 31-36 ISSN 2527-6140, e-ISSN 2541-5890.
- Sahriawati, Sumarlin, dan Wahyuni, S. 2020. Validasi Metode dan Penetapan Kadar Kolesterol Ayam Broiler dengan Metode Lieberman- Burchard. *LUTJANUS*. p-ISSN: 0853 – 7658.
- Saifudin, A., Suparti, F. A., dan Da'I, M. 2006. *Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun Catharanthus roseus [L] GDon*

Berbunga Merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi Vol. 7. No. 2. 2006-92-102.

Samejo, M. Q., Memon, S., Bhangar, M. I., dan Khan, K. M., 2013, Isolation and characterization of steroids from *Calligonum polygonoides.*, *J. Pharmacy Res.*, 6, 346-349.

Sankari, G. E., Kriahnamoorthy, S., Jayakumaran, S., Gunaeakaran, V. V., Priya, S., Subramanlam dan S. K. Mohan. 2010. Analysis of Serum Immunoglobulins Using Fourier Transform Infrared Spectral Measurements. *Biol. Med.* 2(3): 42-48.

Santiago, M., dan Strobel, S. 2013. Thin Layer Chromatography. Methods in Enzymology. Volume 533. ISSN 0076-6879.

Sari, L. D. A., Ningrum, R. S., Ramadani, A. H., dan Kurniawati, E. 2021. Kadar Vitamin C Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) Tiap Fase Kematangan Berdasar Hari Setelah Tanam. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 8 No. 1.

Sastrohamidjojo. H., 2005. *Kimia Organik, Stereokimia, Karbohidrat, Lemak, dan Protein*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.

Sax, D., dan Lewis, R. 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Galler International.

Schwarz, K.,G. Bertelsen, L.R. Nissen, P.T. Gardner, M.I. Heinonen, A.Hopia, H.B.Tuong, P. Lambelet, D. McPhail, L.H. Skibsted, and L. Tijburg. 2001. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Research and technology*. 212: 319–328.

Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran Volume 7*. Jakarta: Lentera Hati.

Shriner, R. L., Hermann, C. K. F., Morrill, T. C., Curtin, D. Y., Fuson, R. C. 2004. *The Systematic Identification of Organic Compounds 8th Edition*. New Jersey: John Wiley & Sons.

- Sidik, M. 1997. Antioksidan Alami Asal Tumbuhan. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII*. Bandung: ITB.
- Sies, H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 82 (2): 291–295.
- Silalahi M. 2019. Keanekaragaman Tumbuhan Bermanfaat di Pekarangan oleh Etnis Sunda di Desa Sindang Jaya Kabupaten Cianjur Jawa Barat. *Jurnal Pendidikan Matematika Dan IPA* 10(1): 88-104.
- Silalahi, V. A., Fachriyah, E., Wibawa, P. J. 2018. Isolation of Alkaloid Compounds from Ethanol Extract of Rimpang Galang Merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K. Schum) and nanoparticle production from its Alkaloid Extract. Comparative Study of Antibacterial Properties on *Staphylococcus aureus* and *Eschericia coli*. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* 21 (1): 1 – 7. ISSN: 1410-8917.
- Simamere, E. S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportes decumana* (Roxb.) Wedd) *Eva*. 11(01), 98-107.
- Simanjuntak, P. 1988. *Metode Isolasi dan Pemurnian Ekstrak Air dari Tumbuhan*. Warta AKAB.
- Sjahid, L. R. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Smith, B. C. 2011. *Fundamental of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. New York: CRC Press. 4-9.
- Socrates. 1994. *Infrared Characteristic Group Frenquences Tables and Charts Second edition*. New York : John Wiley and Sons Inc.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji fitokimia ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (*artemia salina* leach). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.

- Sudirman, S. 2011. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif kangkung air (*Ipomoea aquatica forsk.*). *Skripsi*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Institut Pertanian Bogor.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Penerbit Kanisius: Yogyakarta.
- Sulastry, Taty dan Kurniawati, Nilam. 2010 Isolasi Steroid dari Ekstrak Metanol daun Bluntas *Pluchea Indica L.*. *Jurnal Chemica*. Vol. 11. No. 1.
- Sulistiyani, M., dan Huda, N. 2018. Perbandingan Metode Transmisi dan Reflektansi pada Pengukuran Polistirena Menggunakan Instrumentasi Spektroskopi Fourier Transform Infrared. *Indonesian Journal of Chemical Science*. p-ISSN 2252-6951. e-ISSN 2502-6844.
- Sunarni, T., 2005, Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 2(2), 53-61.
- Suriyaphan, O. 2014. Nutrition, health benefits and applications of *Pluchea indica* (L.) L. leaves. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences* 41(4): 1-10 .
- Susanti, C. M. E. 2000. Autokondensat tanin sebagai perekat kayu lamina. *Desertasi*. Jurusan IPK. Program pasca sarjana IPB. Bogor.
- Susetyarini, Eko. 2013. Aktivitas Tanin Daun beluntas Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Tikus Putih Jantan. *Jurnal Gamma*, ISSN 2086-3071.
- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*, Edisi kelima, diterjemahkan oleh Setiono, L & Pudjaatmaka, A. H. Jakarta : Media Pusaka.
- Tensiska, M., Silvia, O. N. y. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu. *Hasil Penelitian Dosen Jurusan Teknologi Industri Pangan*. Bandung: Universitas Padjajaran.

- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., CisnerosZevallos, L. dan Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19(6-7): 669-675.
- Tobing, R. L. 1989. *Kimia Bahan Alam*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Jakarta: Proyek Pembangunan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.). *Paper presented at Seminar Nasional*. Yogyakarta: Teknik Kimia Kejuangan Fakultas Teknologi Industri UPN Veteran Yogyakarta.
- Vincken, J.P., L. Heng, A. De Groot, & J.H. Gruppen. 2007. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochem*. 68: 275-297.
- Widyawati, P. S. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik Daun beluntas (*Pluchea Indica* L.) dan Fraksinya serta Kemampuan Mencegah *Warmed Over Flavor* pada Daging Itik yang Telah Dipanaskan. *Thesis*. Bogor: Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Widyawati, P. S., Wijaya, H., Harjosworo, P. S., Sajuthi, D. 2012. Aktivitas Antioksidan Berbagai Fraksi dan Ekstrak Metanolik Daun beluntas (*Pluchea Indica* L.). *Agritech*. Vol. 32. No. 3.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisus (Anggota IKAPI).
- Wulansari, D. C. 2011. Penapisan Aktivitas Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikan DPPH. *Majalah Obat Tradisional*. Bogor : Pusat Penelitian Biologi (LIPI).
- Yu Lin, H. Kuo, Y.H. Lin, Y.L. dan Chiang, W. 2009., Antioxidative effect and active components from leaves of lotus (*Nelumbo nucifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 6623–6629.

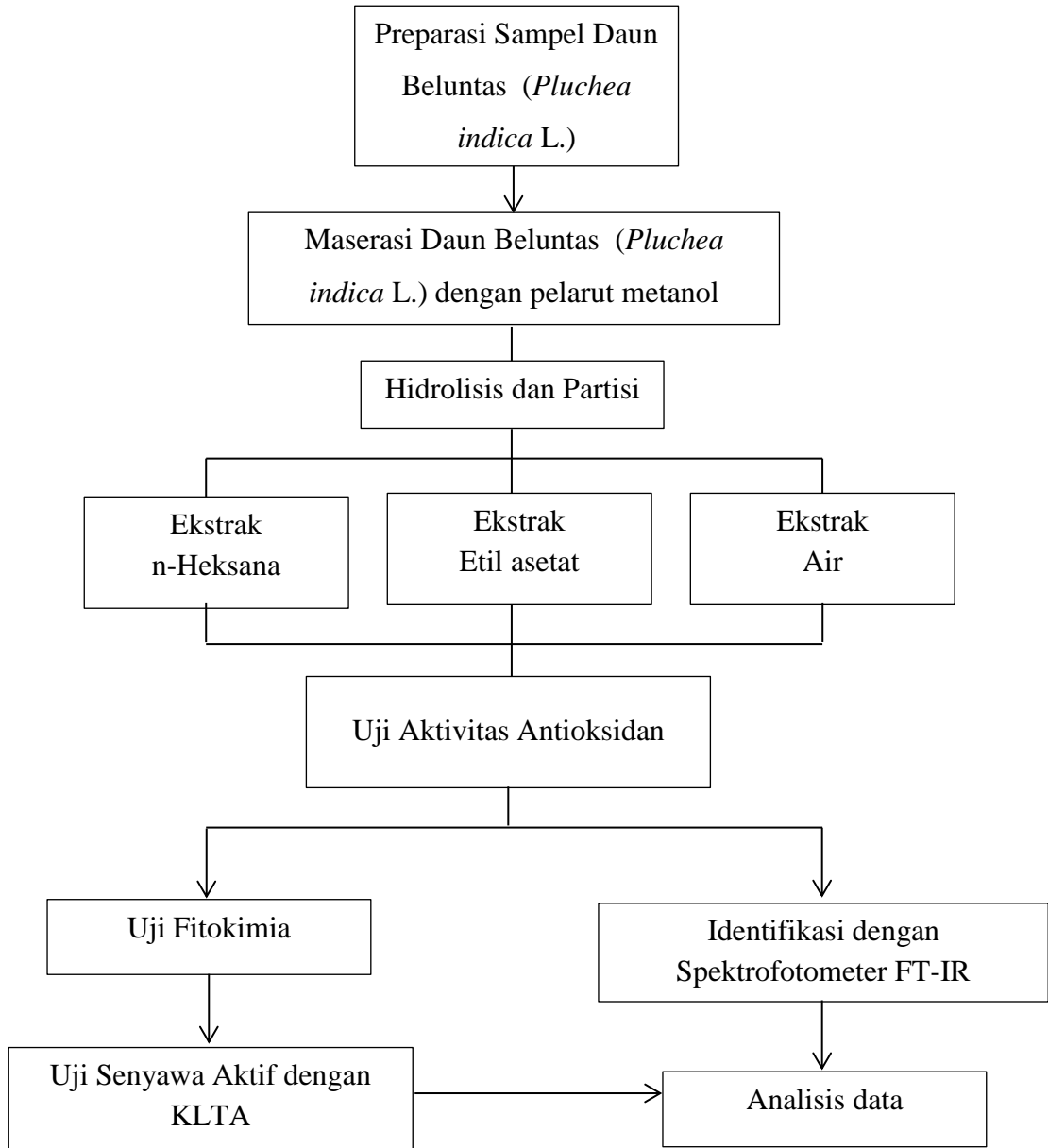
Yusrin, dan Mukaromah A. H. 2010. Proses Hidrolisis Onggok dengan Variasi Asam pada Pembuatan Ethanol. *Prosiding Seminar Nasional Unmus*. ISBN: 978.979.704.883.9.

Zumdahl, S. dan Zumdahl, A. 2007. *Chemistry Seventh Edition*. New York : Houghton Mifflin Company.

Zuvela, P., David, J., Yang, X., Huang, D., Wong, M. W. 2019. Non-Linear Quantitative Structure Activity Relationships Modelling, Mechanistic Study and In-Silico Design of Flavonoids as Potent Antioxidants. *International Journal Of Molecular Scinces*. 20, 2328; doi:10.3390/ijms20092328.

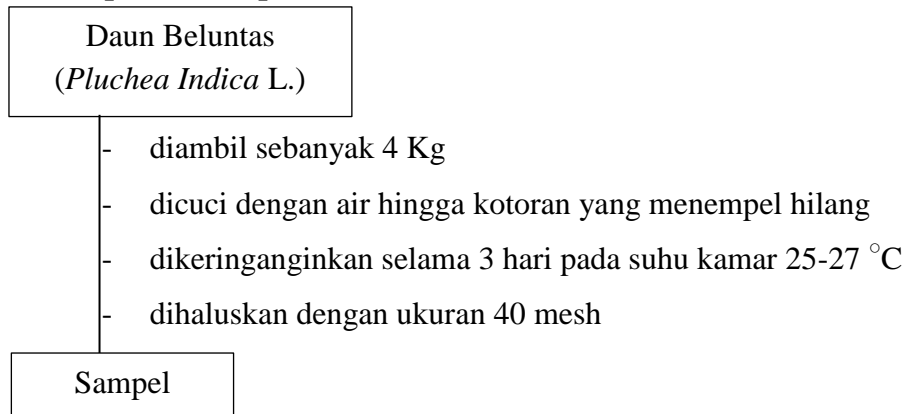
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

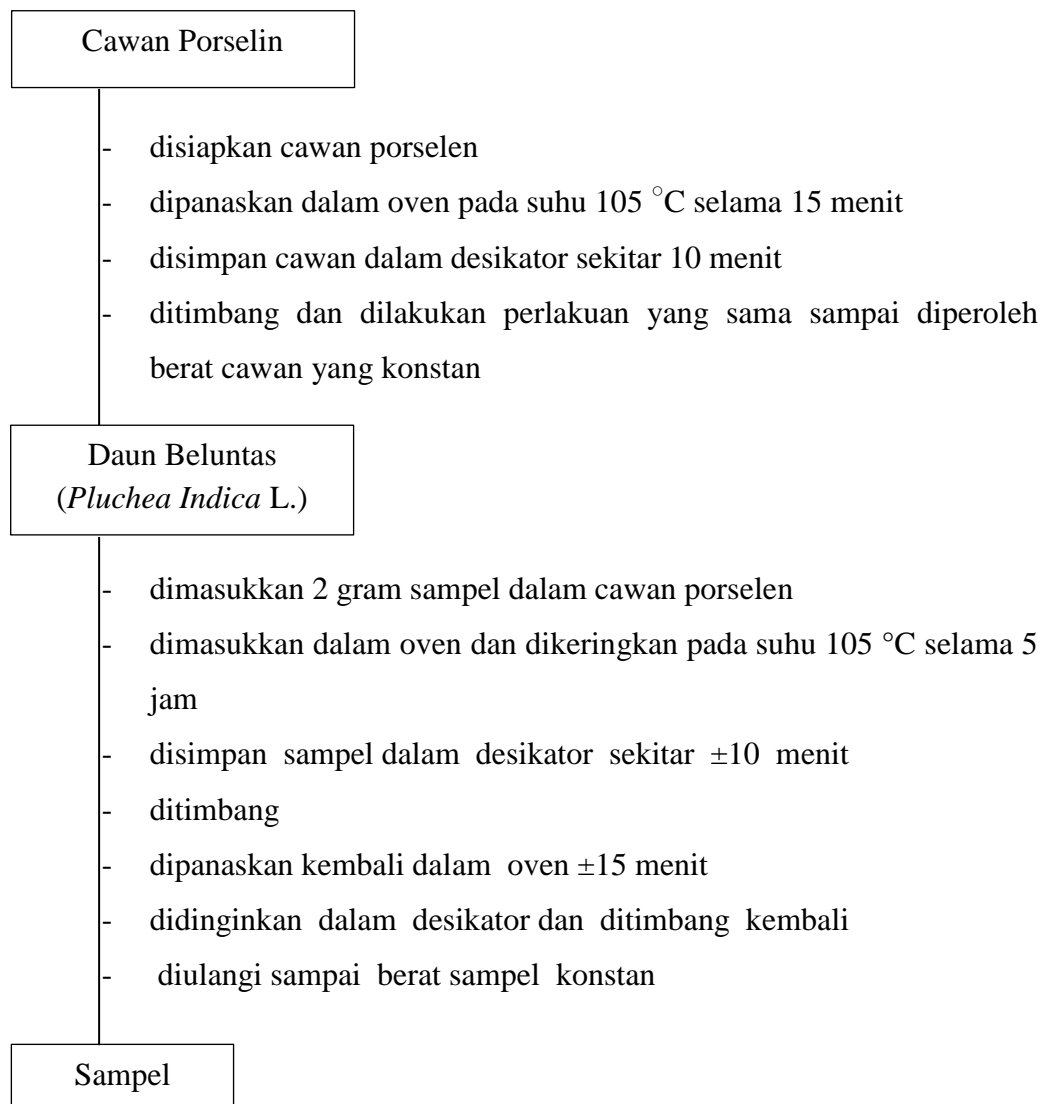


Lampiran 2. Skema Kerja

L2.1 Preparasi Sampel



L2.2 Penentuan Kadar Air



L2.3 Ekstraksi Sampel

Sampel Daun Beluntas

- diambil 50 gram
- dimasukkan ke erlenmeyer
- ditambahkan 250 ml pelarut metanol
- ditutup dengan aluminium foil
- di-shaker selama 3 jam
- dimaserasi selama 3 x 24 jam
- disaring menggunakan Buchner
- dilarutkan kembali menggunakan pelarut yang sama sampai berwarna bening
- dipekatkan filtrat 1,2,3 dengan Rotary Evaporator Vacum

Ekstrak pekat

L2.4 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair

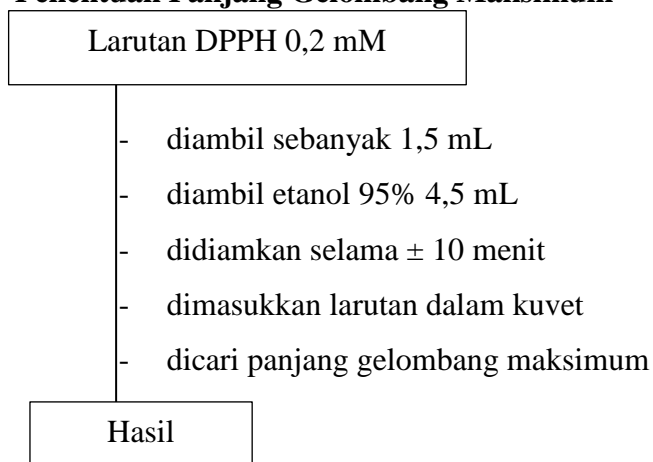
Ekstrak pekat

- diambil 12 gram
- dimasukkan ke dalam beaker glass
- ditambahkan 24 mL HCL 2N
- distirer selama 1 jam pada hot plate pada suhu ruang
- ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO_3) sampai pH netral
- dipartisi secara bertingkat hidrosilat ekstrak metanol dengan 25 mL pelarut n-heksana, Etil Asetat, dan Air
- dipisahkan dua lapisan yang terbentuk
- dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali
- diberikan label disetiap fraksi
- dipekatkan dengan rotary evaporator
- dialiri dengan gas N_2
- ditimbang dan dihitung rendemen

Metabolit Sekunder

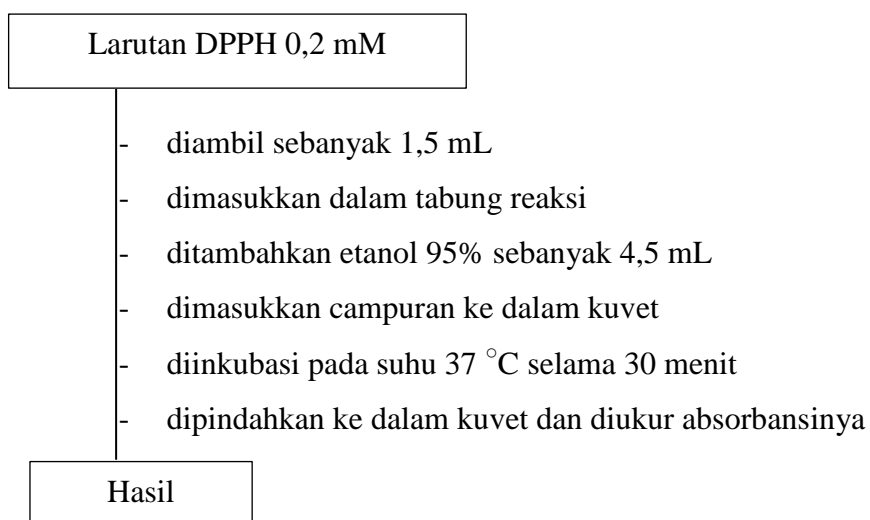
L2.5 Uji Antioksidan

- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

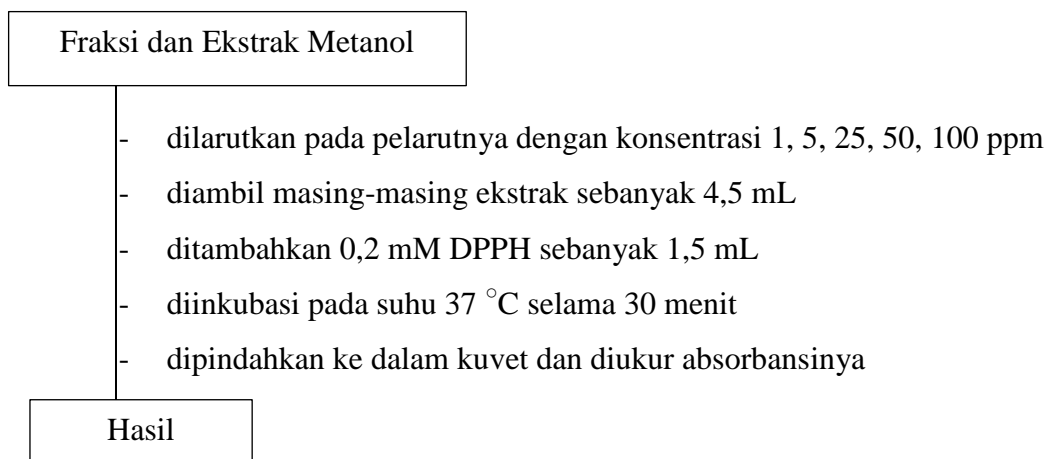


- Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Absorbansi Kontrol

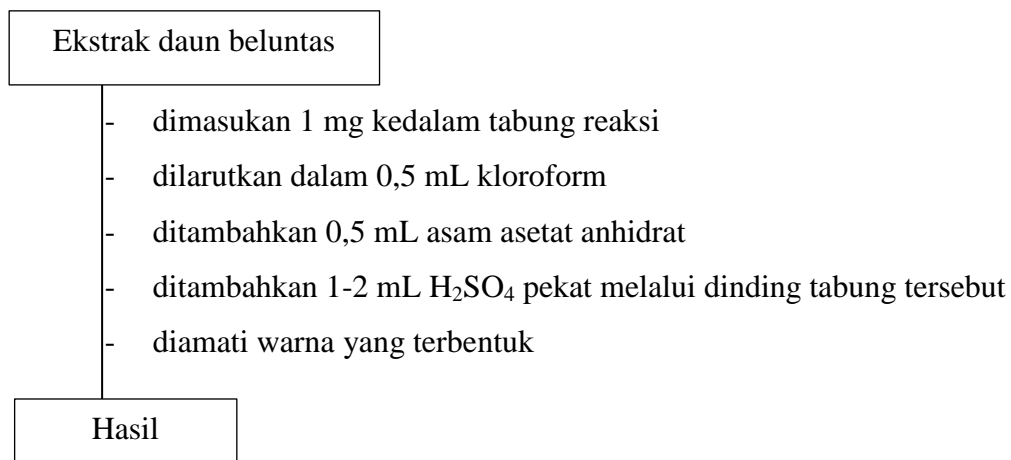


Absorbansi Sampel

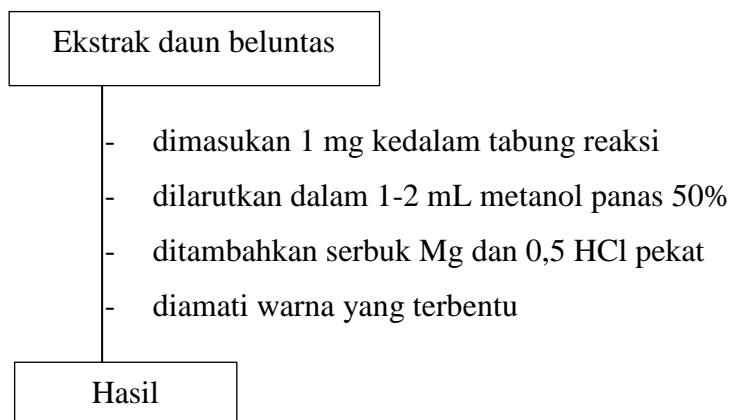


L2.6 Uji fitokimia

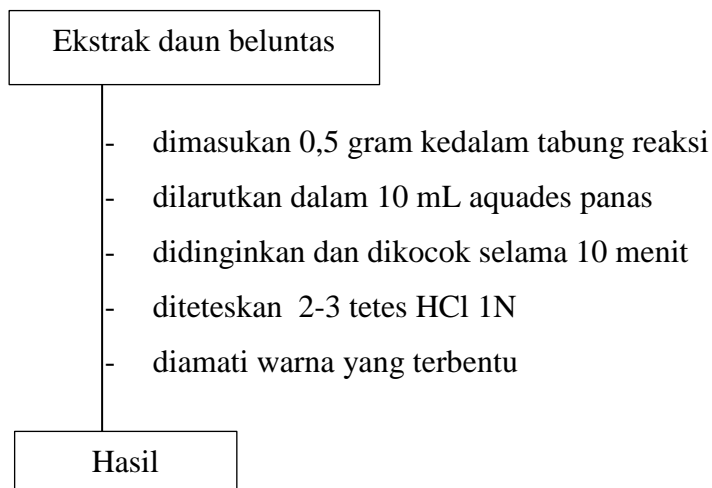
Uji Steroid dan Triterpenoid



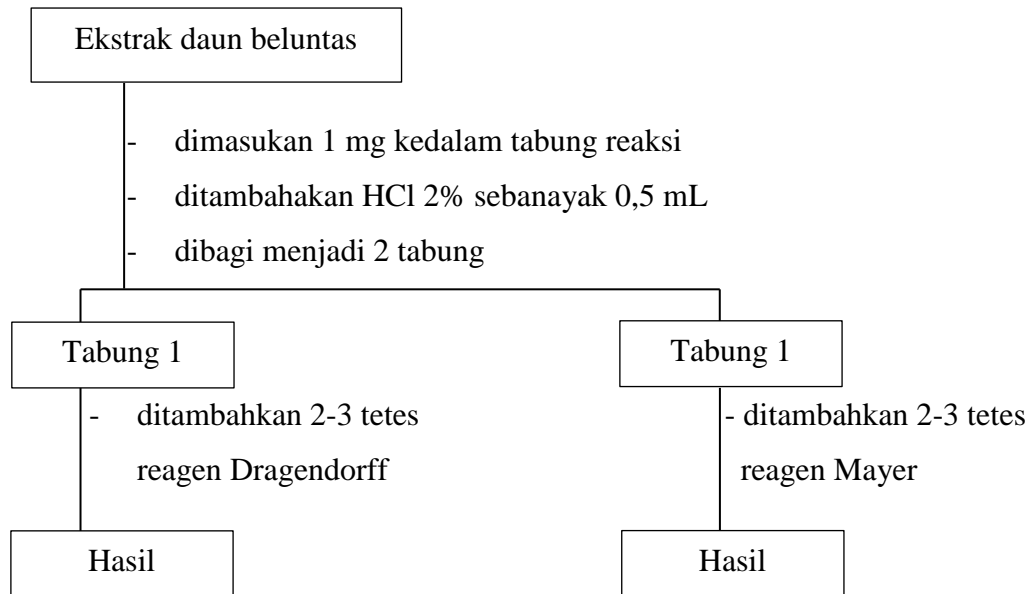
Uji Flavonoid



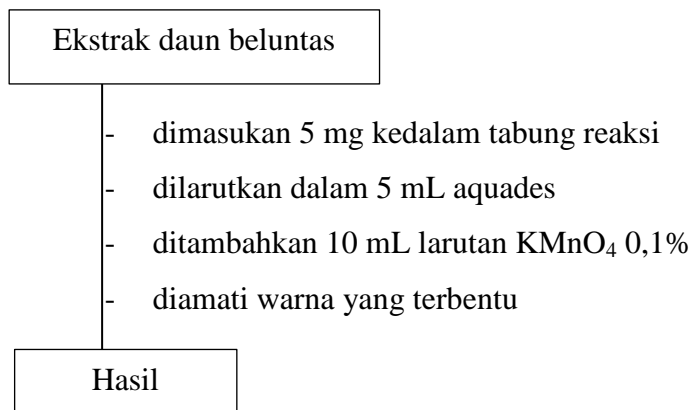
Uji Saponin



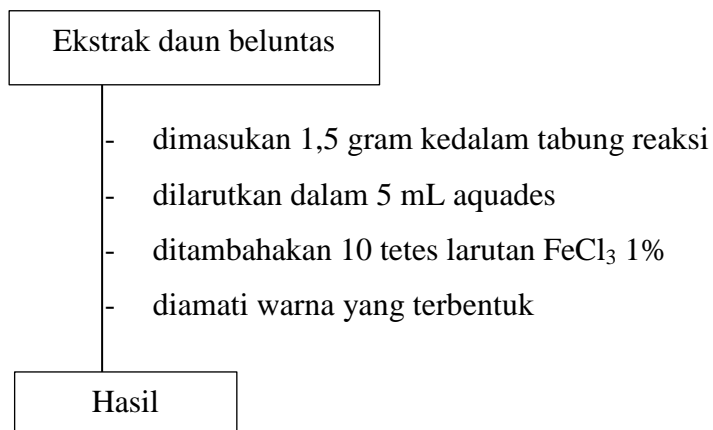
Uji Alkaloid



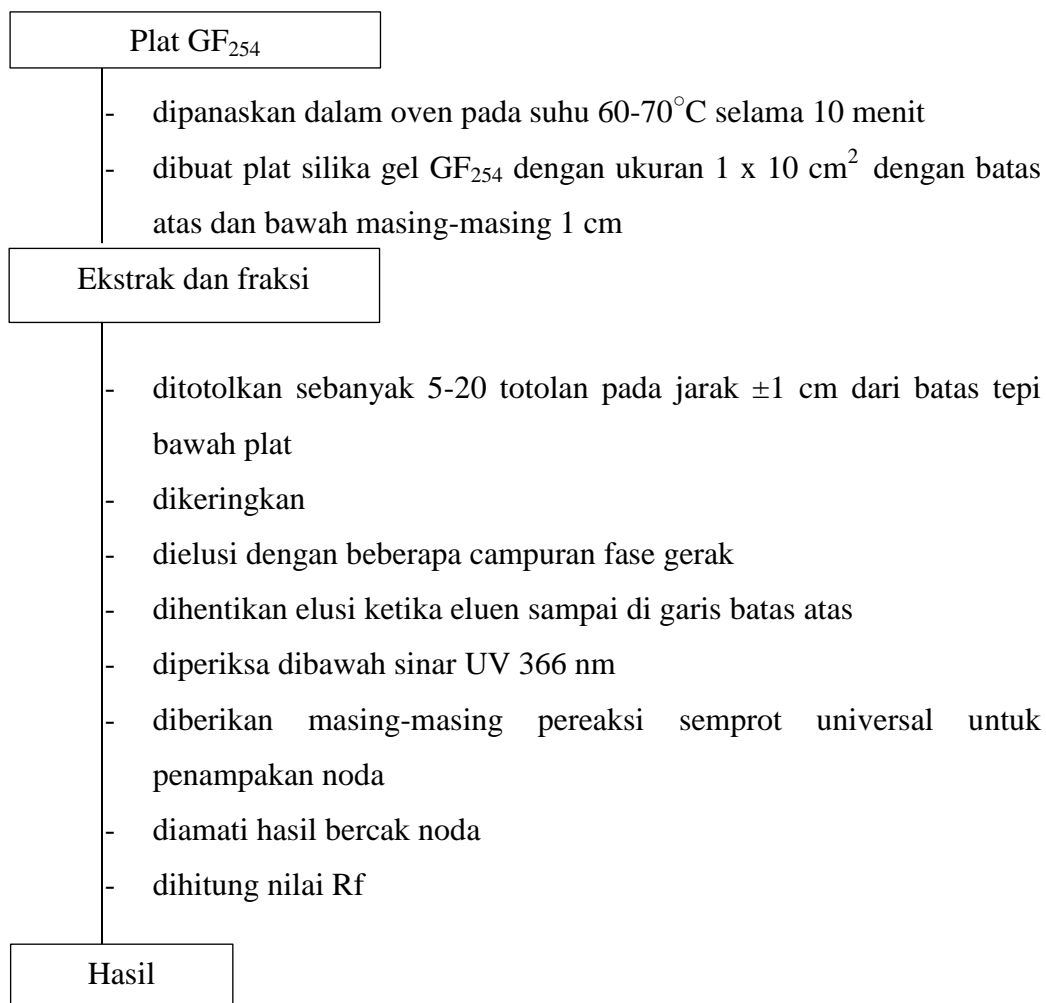
Asam Askorbat



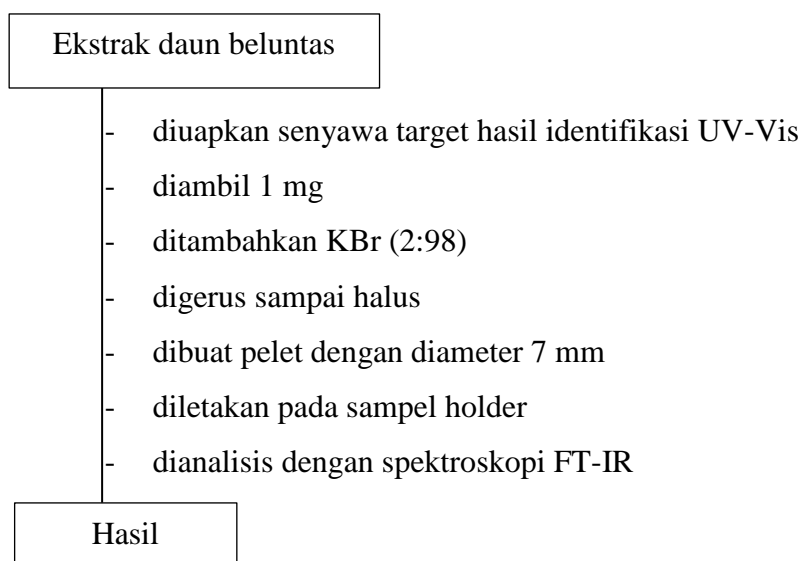
Uji Tanin dan Fenolik



L2.7 Uji Senyawa Aktif dengan KLTA



L2.9 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR



Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan

L3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 M

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol (98%)

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

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

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

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

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

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

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

L3.2 Pembuatan Larutan HCl 2N

$$\text{Densitas} : 1,19 \text{ g/mL} : 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Konsentrasi} : 37\%$$

$$\text{Volume} : 100 \text{ mL}$$

$$\text{Mr HCl} : 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n : 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} : n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$: 1 \times \frac{37\% \times \text{Densitas HCl}}{\text{Mr HCl}}$$

$$: \frac{0,37 \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

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

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 16,54 \text{ mL}$$

$$= 16,5 \text{ mL}$$

HCl 2N dalam 100 mL dibuat dengan membutuhkan HCl pekat 37% sebanyak 16,5 mL yang dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen.

L3.3 Pembuatan HCl 1N

$$\begin{aligned}
 N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\
 2 \text{ N} \times V_1 &= 1 \text{ N} \times 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

HCl 1N dalam 10 mL dibuat dengan membutuhkan HCl 2N sebanyak 5 mL yang dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen.

L3.4 Pembuatan HCl 2%

$$\begin{aligned}
 N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\
 37\% \times V_1 &= 2\% \times 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 0,54 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

HCl 2% dalam 10 mL dibuat dengan membutuhkan HCl pekat 37% sebanyak 0,54 mL yang dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen.

L3.5 Pembuatan FeCl₃ 1%

$$\begin{aligned}
 \text{Mr FeCl}_3 &= 162,2 \text{ g/mol} \\
 \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1\% \times \text{Mr} \times V}{22,4} \\
 &= \frac{1\% \times 162,2 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 0,01 \text{ L}}{22,4} \\
 &= 0,072 \text{ g} \\
 &= 72 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Larutan FeCl₃ 1% dibuat dengan membutuhkan 72 mg FeCl₃ yang dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL.

L3.6 Pembuatan KMnO₄ 0,1%

$$\begin{aligned}
 \text{Densitas} &: 2,7 \text{ g/mL} : 2700 \text{ g/L} \\
 \text{Normalitas} &: 0,1 \text{ N}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Volume} & : 10 \text{ mL} \\
 \text{Mr HCl} & : 158,034 \text{ g/mol} \\
 a & : 5 \\
 0,1 \text{ N} & : a \times \text{Molaritas KMnO}_4 \\
 & : 5 \times \frac{n \times \text{Densitas}}{\text{Mr}} \\
 n & : \frac{0,1 \text{ N} \times 158,034 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{5 \times 2700 \frac{\text{g}}{\text{L}}} \\
 & : 0,001 \\
 & : 0,1 \% \\
 \\
 N & : \frac{\text{gram} \times a}{\text{mr} \times \text{volume}} \\
 \text{Gram} & : \frac{N \times \text{mr} \times \text{volume}}{a} \\
 & : \frac{0,1 \text{ N} \times 158,034 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 0,01 \text{ L}}{5} \\
 & : 0,032 \text{ gram} \\
 & : 32 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Larutan KMnO_4 0,1% dibuat dengan membutuhkan 32 mg KMnO_4 yang dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL.

L3.7 Pembuatan Larutan NaHCO_3 5% (b/v)

Natrium bikarbonat sebanyak 5 gram dilarutkan dengan aquades dalam beaker glass. Kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

L3.8 Pembuatan pereaksi mayer

Larutan A : 1,36 gram HgCl_2 dalam 60 mL aquades

Larutan B : 5 gram KI dalam 10 mL aquades

Kedua larutan ini kemudian dicampur dan diencerkan dengan aquades dalam labu takar hingga tanda batas 100 mL. Kemudian disimpan dalam botol yang berwarna coklat, agar tidak terjadi kontak langsung dengan cahaya.

L3.9 Pembuatan pereaksi dragendorff

Larutan A : 8 gram $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 50 mL HNO_3 pekat

Larutan B : 27,2 gram KI dalam 50 mL akuades

Kedua larutan ini kemudian dicampur dalam labu takar 100 mL, jika terbentuk endapan disaring. Kemudian disimpan dalam botol yang berwarna coklat, agar tidak terjadi kontak langsung dengan cahaya.

L3.10 Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

Pembuatan Larutan Stock Sampel 400 ppm

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

$$400 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$\text{Mg} = 400 \text{ ppm} \times 0,05 \text{ L}$$

$$= 20 \text{ mg}$$

Larutan sampel 400 ppm membutuhkan 20 mg sampel yang dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL.

Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm

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

$$400 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{500 \frac{\text{ppm}}{\text{mL}}}{400 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ mL}$$

Larutan sampel 100 ppm dalam 25 mL membutuhkan larutan stock 400 ppm sebanyak 6,25 mL.

Pembuatan Larutan Sampel 50 ppm

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

$$400 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{250 \frac{\text{ppm}}{\text{mL}}}{400 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,625 \text{ mL}$$

Larutan sampel 50 ppm dalam 25 mL membutuhkan larutan stock 400 ppm sebanyak 3,125 mL.

Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm

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

$$400 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{125 \frac{\text{ppm}}{\text{mL}}}{400 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,3125 \text{ mL}$$

Larutan sampel 25 ppm dalam 25 mL membutuhkan larutan stock 400 ppm sebanyak 1,56 mL.

Pembuatan Larutan Sampel 5 ppm

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

$$400 \text{ ppm} \times V_1 = 5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{25 \frac{\text{ppm}}{\text{mL}}}{400 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0625 \text{ mL}$$

Larutan sampel 5 ppm dalam 25 mL membutuhkan larutan stock 400 ppm sebanyak 0,3 mL.

Pembuatan Larutan Sampel 1 ppm

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

$$400 \text{ ppm} \times V_1 = 1 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{5 \frac{\text{ppm}}{\text{mL}}}{400 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0125 \text{ mL}$$

Larutan sampel 1 ppm dalam 25 mL membutuhkan larutan stock 400 ppm sebanyak 0,0625 mL.

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan

L4.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Daun beluntas

$$\begin{aligned}
 \text{Berat sampel basah} &= 6 \text{ Kg} = 6000 \text{ g} \\
 \text{Berat sampel kering} &= 350 \text{ g} \\
 \text{Berat sampel serbuk kering} &= 340 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat sampel kering}}{\text{Berat sampel basah}} \times 100 \% \\
 &= \frac{340 \text{ g}}{6000 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 5,6 \%
 \end{aligned}$$

L4.2 Penentuan Kadar Air Sampel Kering Daun beluntas

Tabel L4.1 Data berat cawan kosong

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
A1	53,3921	53,3924	53,3934	53,3925	53,3928
A2	72,9332	72,9369	72,9369	72,9369	72,9369
A3	65,9228	65,925	65,9224	65,9243	65,9239

Keterangan : A = Cawan, P = Ulangan

Berat cawan kosong konstan kemudian ditambah 1 g serbuk daun Katuk dan ditimbang kembali sampai berat konstan pada data berat cawan + sampel

Tabel L4.2 Data berat cawan kosong + sampel

Ulangan	Berat Cawan Kosong + Sampel (g)				Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
A1	54,3926	54,3133	54,3118	54,3112	54,3121
A2	73,9369	73,8545	73,8557	73,8536	73,8546
A3	66,9238	66,8414	66,8408	66,8407	66,8410

Keterangan : A = Cawan, P = Ulangan

Berat cawan konstan yang diperoleh adalah data berat cawan + sampel konstan yang akan dihitung kadar airnya

1. Kadar Air Sampel pada Cawan A1

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\% \\
 &= \frac{(54,3926 - 54,3121) \text{ g}}{(54,3926 - 53,3928) \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 0,0805/0,9998 \times 100\% = 8,1\%
 \end{aligned}$$

2. Kadar Air Sampel pada Cawan A2

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\% \\
 &= \frac{(73,9369 - 73,8546) \text{ g}}{(73,9369 - 72,9369) \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 0,0805/1 \times 100\% = 8,2\%
 \end{aligned}$$

3. Kadar Air Sampel pada Cawan A3

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\% \\ &= \frac{(66,9238 - 66,8410) \text{ g}}{(66,9238 - 65,9239) \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,0828/0,9999 \times 100\% = 8,28\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air rata-rata daun beluntas} &= \frac{\text{kadar air 1} + \text{kadar air 2} + \text{kadar air 3}}{3} \\ &= \frac{8,2\% + 8,1\% + 8,28\%}{3} \\ &= 8,2\% \end{aligned}$$

L4.3 Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi

Tabel L4.3 Data hasil rendemen ekstrak metanol

Ulangan Ekstraksi	Berat Sampel (g)	Berat Gelas Kosong (g)	Berat Gelas Kosong + Ekstrak (g)	Berat Ekstrak (g)
1	50	36,1948	46,4249	10,2301
2	50	35,6428	45,954	10,3112

1. Rendemen pada ekstraksi pertama

$$\begin{aligned} \text{Berat gelas kosong} &= 36,1948 \text{ g} \\ \text{Berat gelas kosong + ekstrak pekat} &= 46,4249 \text{ g} \\ \text{Berat ekstrak pekat} &= 10,2301 \text{ g} \\ \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{10,2301 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 20,46\% \end{aligned}$$

2. Rendemen pada ekstraksi kedua

$$\begin{aligned} \text{Berat gelas kosong} &= 35,6428 \text{ g} \\ \text{Berat gelas kosong + ekstrak pekat} &= 45,954 \text{ g} \\ \text{Berat ekstrak pekat} &= 10,3112 \text{ g} \\ \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{10,3112 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 20,62\% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata rendemen ekstrak metanol} = \frac{\text{Rendemen 1} + \text{Rendemen 2}}{2}$$

$$= \frac{(20,46+20,62)\%}{2}$$

$$= 20,54\%$$

L4.4 Perhitungan Rendemen Hasil Hidrolisis dan Partisi

Tabel L4.4 Data hasil rendemen fraksi

Fraksi	Berat Sampel (g)	Berat Gelas Kosong (g)	Berat Gelas Kosong + Ekstrak (g)	Berat Ekstrak (g)
n-Heksana	9	97,9757	99,4294	1,4537
Etil Asetat	9	131,6787	135,2504	3,5717
Air	9	35,6428	39,6173	3,9745

1. Fraksi n-Heksana

Berat gelas kosong = 97,9757 g

Berat gelas kosong + ekstrak pekat = 99,4294 g

Berat ekstrak pekat = 1,4537 g

Rendemen = $\frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{1,4537 \text{ g}}{9 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 16,15 \%$$

2. Fraksi Etil Asetat

Berat gelas kosong = 131,6787 g

Berat gelas kosong + ekstrak pekat = 135,2504 g

Berat ekstrak pekat = 3,5717 g

Rendemen = $\frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{3,5717 \text{ g}}{9 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 39,69 \%$$

2. Rendemen pada ekstraksi kedua

Berat gelas kosong = 35,6428 g

Berat gelas kosong + ekstrak pekat = 39,6173 g

Berat ekstrak pekat = 3,9745 g

Rendemen = $\frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{3,9745 \text{ g}}{9 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 44,16 \%$$

L4.4 Perhitungan Aktivitas Antioksidan

L4.4.1 Aktivitas Antikoksidan Ekstrak Metanol

Tabel L4.5 Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol

C (ppm)	Pengulangan ke-1		Pengulangan ke-2		Pengulangan ke-3	
	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel
1	0,3801	0,3743	0,4545	0,4451	0,4572	0,3676
5	0,3845	0,3815	0,454	0,4338	0,4572	0,3745
25	0,3806	0,2894	0,4545	0,3406	0,4577	0,3179
50	0,3832	0,1258	0,4545	0,2009	0,4582	0,2180
100	0,3805	0,0672	0,4542	0,0981	0,4596	0,0521

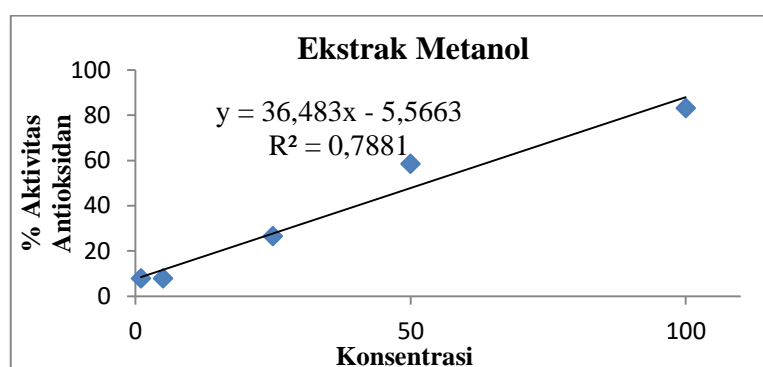
Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan ekstrak methanol daun beluntas pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

Tabel L4.6 Data hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	% Aktivitas Antoksidan			
		P1	P2	P3	Rata-rata
1	0,000	1,526	2,068	19,598	7,731
5	0,699	0,780	4,449	18,088	7,773
25	1,398	23,962	25,061	30,544	26,522
50	1,699	67,171	55,798	52,423	58,464
100	2,000	82,339	78,402	88,664	83,135

Keterangan : P = Pengulangan



Persamaan linear

$$y = 36,483x - 5,5663$$

$$y = ax + b$$

$$y = 50$$

$$x = EC_{50}$$

$$EC_{50} = \frac{y-b}{a} = \frac{(50 - (-5,5663))}{36,483} = \frac{55,5663}{36,483}$$

$$= 1,52 \text{ ppm}$$

L4.4.2 Aktivitas Antikoksidan Fraksi Air

Tabel L4.7 Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan fraksi air

C (ppm)	Pengulangan ke-1		Pengulangan ke-2		Pengulangan ke-3	
	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel
1	0,3765	0,3738	0,4598	0,3739	0,9953	0,9895
5	0,3808	0,3788	0,4607	0,3645	0,9933	0,9852
25	0,3769	0,374	0,4606	0,3579	0,9934	0,9753
50	0,3769	0,347	0,4613	0,355	0,9946	0,9589
100	0,3768	0,3146	0,4614	0,3047	0,9961	0,9294

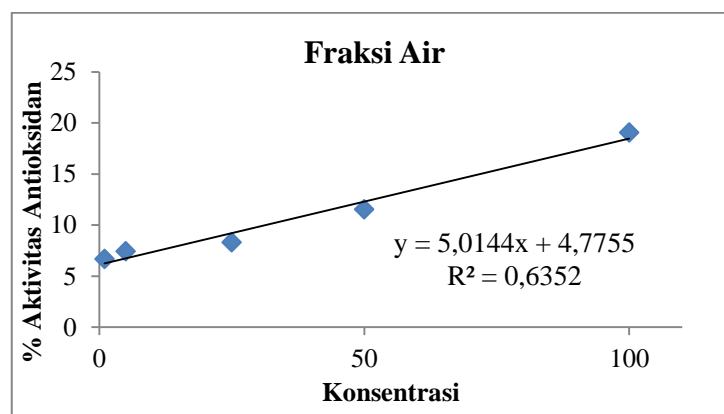
Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan fraksi air daun beluntas pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

Tabel L4.8 Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi air

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	% Aktivitas Antoksidan			
		P1	P2	P3	Rata-rata
1	0,000	0,717	18,682	0,583	6,661
5	0,699	0,525	20,881	0,815	7,407
25	1,398	0,769	22,297	1,822	8,296
50	1,699	7,933	23,044	3,589	11,522
100	2,000	16,507	33,962	6,696	19,055

Keterangan : P = Pengulangan



Persamaan linear

$$y = 5,0144x + 4,7755$$

$$y = ax + b$$

$$y = 50$$

$$x = EC_{50}$$

$$EC_{50} = \frac{y-b}{a} = \frac{(50 - 4,7755)}{5,0144} = \frac{45,2245}{5,0144}$$

$$= 9,02 \text{ ppm}$$

L4.4.3 Aktivitas Antikoksidan Fraksi Etil Asetat

Tabel L4.9 Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat

C (ppm)	Pengulangan ke-1		Pengulangan ke-2		Pengulangan ke-3	
	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel
1	0,4542	0,2314	0,4601	0,3421	0,4242	0,2836
5	0,4539	0,2042	0,4599	0,2890	0,4242	0,0559
25	0,4544	0,0985	0,4605	0,0399	0,4252	0,0554
50	0,4541	0,0947	0,4601	0,0362	0,4251	0,0476
100	0,4539	0,0899	0,4606	0,0356	0,4244	0,0461

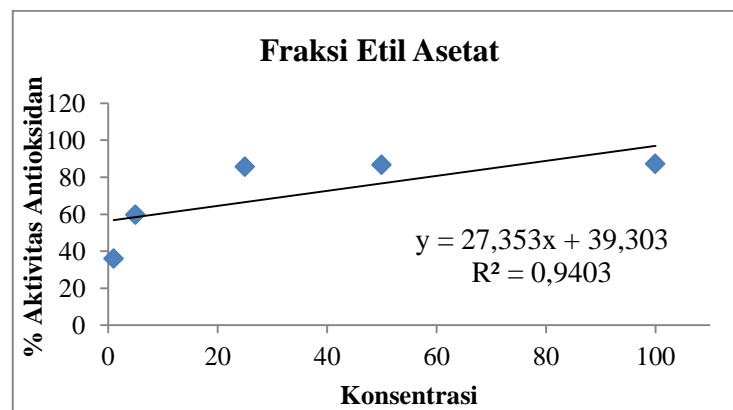
Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun beluntas pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

Tabel L4.10 Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	% Aktivitas Antoksidan			
		P1	P2	P3	Rata-rata
1	0,000	49,053	25,647	33,145	35,948
5	0,699	55,012	37,160	86,822	59,665
25	1,398	78,323	91,336	86,971	85,543
50	1,699	79,146	92,132	88,803	86,693
100	2,000	80,194	92,271	89,138	87,201

Keterangan : P = Pengulangan



Persamaan linear

$$y = 27,353x + 39,303$$

$$y = ax + b$$

$$y = 50,$$

$$x = EC_{50}$$

$$EC_{50} = \frac{y-b}{a} = \frac{(50 - 39,303)}{27,353} = \frac{10,697}{27,353}$$

$$= 0,39 \text{ ppm}$$

L4.4.4 Aktivitas Antikoksidan Fraksi n-Heksana

Tabel L4.11 Data absorbansi hasil uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana

C (ppm)	Pengulangan ke-1		Pengulangan ke-2		Pengulangan ke-3	
	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Abs. Kontrol	Abs. Sampel
1	0,4598	0,3879	0,4234	0,4118	0,9895	0,9893
5	0,4594	0,3841	0,4240	0,4011	0,9880	0,9824
25	0,4583	0,3797	0,4274	0,3896	0,9872	0,9623
50	0,4612	0,3777	0,4229	0,3802	0,9853	0,9533
100	0,4575	0,3738	0,4232	0,3778	0,9851	0,9201

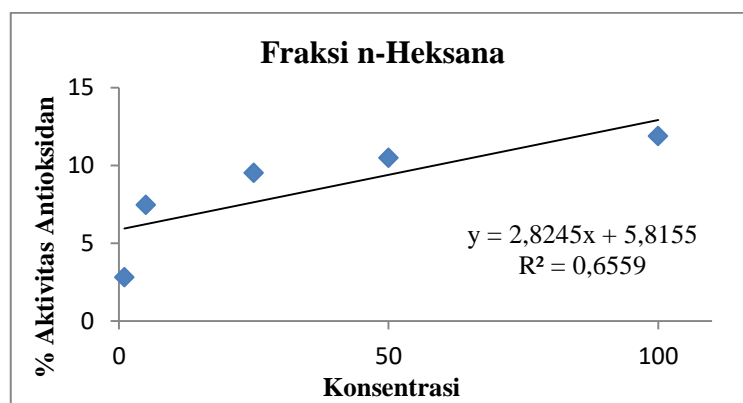
Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana daun beluntas pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

Tabel L4.12 Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	% Aktivitas Antoksidan			
		P1	P2	P3	Rata-rata
1	0,000	15,637	2,740	0,020	6,132
5	0,699	16,391	5,401	0,567	7,453
25	1,398	17,150	8,844	2,522	9,506
50	1,699	18,105	10,097	3,248	10,483
100	2,000	18,295	10,728	6,598	11,874

Keterangan : P = Pengulangan



Persamaan linear

$$y = 2,8245x + 5,8155$$

$$y = ax + b$$

$$y = 50,$$

$$x = EC_{50}$$

$$EC_{50} = \frac{y-b}{a} = \frac{(50 - 5,8155)}{2,8245} = \frac{44,1845}{2,8245}$$

$$= 15,64 \text{ ppm}$$

L4.6 Identifikasi dan Perhitungan Nilai Rf KLTA

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh noda}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

L4.6.1 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Steroid

Tabel L4.13 Data penampakan noda dugaan senyawa steroid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ_{366} nm

Eluen	Sampel	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
n-Heksana : Etil Asetat (8:2)	Ekstrak Metanol	8	0; 0,4; 0,7; 1,2; 1,7; 2,1; 2,3; 3,2	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	6	0; 0,3; 1,2; 2; 2,3; 3,2	Terpisah
	Fraksi n-heksana	14	0; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8; 2,1; 2,8; 3,2; 3,7; 4,4; 5,6; 7; 7,4	Terpisah
n-Heksana : Etil Asetat (9:1)	Ekstrak Metanol	5	0; 0,3; 0,8; 1,2; 7	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	4	0; 0,2; 0,4; 0,8	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	10	0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,7; 2,5; 3,1; 5,2; 6,2; 7	Terpisah
n-Heksana : Etil Asetat (6:4)	Ekstrak Metanol	12	0; 0,3; 0,7; 1; 1,4; 3,2; 3,9; 5,3; 5,7; 6,1; 6,4; 7,3;	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	10	0; 0,2; 0,4; 0,9; 1,5; 3,8; 5,3; 5,8; 6,1; 6,5	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	10	0; 0,3; 3; 3,7; 5,1; 5,5; 6; 6,3; 6,8; 7,3	Terpisah

- Hasil KLTA Senyawa Steroid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (8:2)

Tabel L4.14 Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana : etil asetat (8:2)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	8	0	8	0,00	Ungu kehitaman	Tanin
		0,4	8	0,05	Hijau muda terang	Steroid
		0,7	8	0,09		Steroid
		1,2	8	0,15	Merah muda	Terpenoid
		1,7	8	0,21	Biru muda	Steroid
		2,1	8	0,26	Jingga	Flavonoid

		2,3	8	0,29	Hijau muda terang	Steroid
		3,2	8	0,40	Hijau muda terang	Steroid
Fraksi air	1	0	8	0	Ungu terang	-
		0	8	0,00	Biru keunguan	Flavonoid
		0,3	8	0,04	Biru muda	Steroid
Fraksi Etil Asetat	6	1,2	8	0,15	Biru muda	Steroid
		2	8	0,25	Biru muda	Steroid
		2,3	8	0,29	Biru muda	Steroid
		3,2	8	0,40	Biru muda	Steroid
		0	8	0,00	Merah kecoklatan	Alkanoid
		0,6	8	0,08	Biru muda	Steroid
		0,9	8	0,11	Biru muda	Steroid
		1,2	8	0,15	Merah	Terpenoid
		1,5	8	0,19	Ungu muda	-
		1,8	8	0,23	Merah	Terpenoid
Fraksi n-Heksana	14	2,1	8	0,26	Merah kecoklatan	Alkanoid
		2,8	8	0,35	Merah kecoklatan	Alkanoid
		3,2	8	0,40	Merah muda pudar	Terpenoid
		3,7	8	0,46	Biru muda	Steroid
		4,4	8	0,55	Biru muda	Steroid
		5,6	8	0,70	Biru muda	Steroid
		7	8	0,88	Hijau muda terang	Steroid
		7,4	8	0,93	Hijau Muda terang	Steroid

- Hasil KLTA Senyawa Steroid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (17:3)

Tabel L4.15 Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana : etil asetat (17:3)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
		0	8	0,00	Biru kehitaman	Tanin
		0,2	8	0,03	Ungu muda terang	-
Ekstrak Metanol	5	0,5	8	0,06	Ungu muda terang	-
		1	8	0,13	Merah muda terang	Terpenoid
		1,8	8	0,23	Hijau muda terang	Steroid
Fraksi air	1	0	8	0,00	Ungu muda pudar	-
		0	8	0,00	Biru keunguan	Tanin
		0,2	8	0,03	Ungu muda terang	-
Fraksi Etil Asetat	5	0,5	8	0,06	Biru muda	Steroid
		1	8	0,13	Merah muda terang	Terpenoid
		1,8	8	0,23	Biru muda	Steroid
		0	8	0,00	Merah kecoklatan	Alkanoid
		0,3	8	0,04	Hijau muda terang	Steroid
Fraksi n-Heksana	10	0,5	8	0,06	Merah kecoklatan	Alkanoid
		0,7	8	0,09	Hijau muda terang	Steroid
		1	8	0,13	Merah kecoklatan	Alkanoid
		1,8	8	0,23	Merah kecoklatan	Alkanoid

	3,2	8	0,40	Biru muda	Steroid
	4,6	8	0,58	Biru muda	Steroid
	6,7	8	0,84	Hijau muda terang	Steroid
	7,3	8	0,91	Hijau muda terang	Steroid

- Hasil KLTA Senyawa Steroid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (9:1)

Tabel L4.16 Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana : etil asetat (9:1)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
		0	8	0,00	Biru keunguan	Tanin
Ekstrak Metanol	5	0,3	8	0,04	Merah muda pudar	Terpenoid
		0,8	8	0,10	Merah muda pudar	Terpenoid
		1,2	8	0,15	Biru muda	Steroid
		7	8	0,88	Hijau muda terang	Steroid
Fraksi air	1	0	8	0,00	Biru muda pudar	Steroid
Fraksi Etil Asetat	4	0	8	0,00	Biru keunguan	Tanin
		0,2	8	0,03	Biru muda	Steroid
		0,4	8	0,05	Biru muda	Steroid
		0,8	8	0,10	Biru muda	Steroid
Fraksi n-Heksana	10	0	8	0,00	Merah	Terpenoid
		0,4	8	0,05	Merah kehitaman	Terpenoid
		0,8	8	0,10	Merah kehitaman	Terpenoid
		1,2	8	0,15	Biru muda terang	Steroid
		1,7	8	0,21	Biru muda terang	Steroid
		2,5	8	0,31	Biru muda	Steroid
		3,1	8	0,39	Biru muda	Steroid
		5,2	8	0,65	Biru muda	Steroid
		6,2	8	0,65	Biru muda	Steroid
7	8	0,88	Hijau muda terang	Steroid		

- Hasil KLTA Senyawa Steroid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (6:4)

Tabel L4.17 Hasil pemisahan KLTA senyawa steroid eluen n-heksana : etil asetat (6:4)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
		0	8	0,00	Biru kehitaman	Tanin
Ekstrak Metanol	12	0,3	8	0,04	Biru muda pudar	Steroid
		0,7	8	0,09	Biru Muda	Steroid
		1	8	0,13	Biru muda	Steroid
		1,4	8	0,18	Biru muda	Steroid
		3,2	8	0,40	Biru muda	Steroid
		3,9	8	0,49	Biru muda	Steroid
		5,3	8	0,66	Merah muda	Terpenoid
		5,7	8	0,71	Merah muda	Terpenoid

		6,1	8	0,76	Hijau Muda terang	Steroid
		6,4	8	0,80	Hijau muda terang	Steroid
		7,3	8	0,91	Biru muda terang	Steroid
Fraksi air	1	0	8	0	Putih kehijauan	-
		0	8	0,00	Biru kehitaman	Tanin
		0,2	8	0,03	Biru muda pudar	Steroid
		0,4	8	0,05	Biru keunguan	Tanin
		0,9	8	0,11	Biru keunguan	Tanin
Fraksi Etil Asetat	9	1,5	8	0,19	Biru keunguan	Tanin
		3,8	8	0,48	Biru muda	Steroid
		5,3	8	0,66	Biru muda	Steroid
		5,8	8	0,73	Merah muda pudar	Terpenoid
		6,1	8	0,76	Biru muda pudar	Steroid
		6,5	8	0,81	Biru muda pudar	Steroid
		0	8	0,00	Merah muda pudar	Terpenoid
		0,3	8	0,04	Hijau muda pudar	Steroid
		3	8	0,38	Biru muda pudar	Steroid
		3,7	8	0,46	Biru muda	Steroid
Fraksi n-Heksana	10	5,1	8	0,64	Merah Muda	Terpenoid
		5,5	8	0,69	Merah muda	Terpenoid
		6	8	0,75	Merah muda	Terpenoid
		6,3	8	0,79	Merah	Terpenoid
		6,8	8	0,85	Merah muda pudar	Terpenoid
		7,3	8	0,91	Biru Muda terang	Steroid

L4.7.2 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Terpenoid

Tabel L4.18 Data penampakan noda dugaan senyawa terpenoid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ_{366} nm

Eluen	Sampel	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
n-Heksana : Etil Asetat (15:5)	Ekstrak Metanol	10	0; 0,3; 0,7; 0,9; 1,1; 1,4; 2,1; 2,9; 3,3; 4,3	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	9	0; 0,3; 0,6; 0,8; 1; 2; 3; 3,4; 4,3	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	20	0; 0,4; 0,6; 0,8; 1,1; 1,4; 1,7; 2,1; 2,5; 2,8; 3,2; 3,5; 3,8; 4,2; 4,7; 5,1; 5,6; 6,2; 6,6; 7,3	Terpisah
n-Heksana : Etil Asetat (17:3)	Ekstrak Metanol	5	0; 0,2; 0,5; 1; 1,8	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	5	0; 0,2; 0,5; 1; 1,8	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	10	0; 0,3; 0,5; 0,7; 1; 1,8; 3,2; 4,6; 6,7; 7,3	Terpisah
n-Heksana :	Ekstrak Metanol	12	0; 0,3; 0,7; 1; 1,4;	Terpisah

Etil Asetat (6:4)			3,2; 3,9; 5,3; 5,7; 6,1; 6,4; 7,3;	
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	10	0; 0,2; 0,4; 0,9; 1,5; 3,8; 5,3; 5,8; 6,1; 6,5	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	10	0; 0,3; 3; 3,7; 5,1; 5,5; 6; 6,3; 6,8; 7,3	Terpisah

- Hasil KLTA Senyawa Terpenoid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (15:5)

Tabel L4.19 Hasil pemisahan KLTA senyawa terpenoid eluen n-heksana : etil asetat (15:5)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	10	0	8	0,36	Ungu kehitaman	Terpenoid
		0,3	8	0,46	Merah muda	Terpenoid
		0,7	8	0,54	Merah muda	Terpenoid
		0,9	8	0,60	Merah muda	Terpenoid
		1,1	8	0,65	Merah muda	Terpenoid
		1,4	8	0,71	Ungu muda	-
		2,1	8	0,76	Merah muda	Terpenoid
		2,9	8	0,81	Merah	Terpenoid
		3,3	8	0,85	Merah	Terpenoid
		4,3	8	0,90	Merah	Terpenoid
Fraksi air	1	0	8	0	Ungu terang	-
Fraksi Etil Asetat	9	0	8	0,00	Biru keunguan	Terpenoid
		0,3	8	0,04	Biru muda	Steroid
		0,6	8	0,08	Biru muda	Steroid
		0,8	8	0,10	Biru muda	Steroid
		1	8	0,13	Biru muda	Steroid
		2	8	0,25	Ungu muda	-
		3	8	0,38	Merah pudar	Terpenoid
		3,4	8	0,43	Merah muda	Terpenoid
		4,3	8	0,54	Merah pudar	Terpenoid
		Fraksi n-Heksana	20	0	8	0,00
0,4	8			0,05	Merah pudar	Terpenoid
0,6	8			0,08	Merah pudar	Terpenoid
0,8	8			0,10	Merah pudar	Terpenoid
1,1	8			0,14	Biru keunguan	Terpenoid
1,4	8			0,18	Merah muda	Terpenoid
1,7	8			0,21	Biru muda	Steroid
2,1	8			0,26	Merah keunguan	Terpenoid
2,5	8			0,31	Biru keunguan	Terpenoid
2,8	8			0,35	Merah pudar	Terpenoid
3,2	8			0,40	Merah keunguan	Terpenoid
3,5	8			0,44	Merah pudar	Terpenoid
3,8	8			0,48	Merah pudar	Terpenoid
4,2	8	0,53	Merah keunguan	Terpenoid		
4,7	8	0,59	Merah muda	Terpenoid		

	5,1	8	0,64	Merah muda	Terpenoid
	5,6	8	0,70	Merah muda	Terpenoid
	6,2	8	0,78	Jingga	Flavonoid
	6,6	8	0,83	Merah muda	Terpenoid
	7,3	8	0,91	Biru muda	Steroid

- Hasil KLTA Senyawa Terpenoid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (17:3)

Tabel L4.20 Hasil pemisahan KLTA senyawa terpenoid eluen n-heksana : etil asetat (17:3)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	5	0	8	0,00	Ungu kehitaman	Terpenoid
		0,2	8	0,03	Ungu muda terang	Tanin
		0,5	8	0,06	Ungu muda terang	Tanin
		1	8	0,13	Merah muda	Terpenoid
		1,8	8	0,23	Hijau muda terang	Steroid
Fraksi air	1	0	8	0,00	Ungu muda pudar	-
Fraksi Etil Asetat	5	0	8	0,00	Biru keunguan	Terpenoid
		0,2	8	0,03	Ungu muda terang	Tanin
		0,5	8	0,06	Biru muda	Steroid
		1	8	0,13	Merah muda	Terpenoid
		1,8	8	0,23	Biru muda	Steroid
Fraksi n-Heksana	10	0	8	0,00	Merah keunguan	Terpenoid
		0,3	8	0,04	Hijau muda terang	Steroid
		0,5	8	0,06	Merah keunguan	Terpenoid
		0,7	8	0,09	Hijau muda terang	Steroid
		1	8	0,13	Merah keunguan	Terpenoid
		1,8	8	0,23	Merah keunguan	Terpenoid
		3,2	8	0,40	Biru muda	Steroid
		4,6	8	0,58	Biru muda	Steroid
6,7	8	0,84	Hijau muda terang	Steroid		
7,3	8	0,91	Hijau muda terang	Steroid		

- Hasil KLTA Senyawa Terpenoid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (6:4)

Tabel L4.21 Hasil pemisahan KLTA senyawa terpenoid eluen n-heksana : etil asetat (6:4)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	12	0	8	0,00	Terpenoid	Terpenoid
		0,3	8	0,04	Biru muda pudar	Steroid
		0,7	8	0,09	Biru Muda	Steroid
		1	8	0,13	Biru muda	Steroid
		1,4	8	0,18	Biru muda	Steroid
		3,2	8	0,40	Biru muda	Steroid

		3,9	8	0,49	Biru muda	Steroid
		5,3	8	0,66	Merah	Terpenoid
		5,7	8	0,71	Merah	Terpenoid
		6,1	8	0,76	Hijau Muda terang	Steroid
		6,4	8	0,80	Hijau muda terang	Steroid
		7,3	8	0,91	Biru muda terang	Steroid
Fraksi air	1	0	8	0	Putih kehijauan	-
		0	8	0,00	Biru kehitaman	Terpenoid
		0,2	8	0,03	Biru muda pudar	Steroid
		0,4	8	0,05	Biru keunguan	Terpenoid
		0,9	8	0,11	Biru keunguan	Terpenoid
Fraksi Etil Asetat	9	1,5	8	0,19	Biru keunguan	Terpenoid
		3,8	8	0,48	Biru muda	Steroid
		5,3	8	0,66	Biru muda	Steroid
		5,8	8	0,73	Merah muda	Terpenoid
		6,1	8	0,76	Biru muda pudar	Steroid
		6,5	8	0,81	Biru muda pudar	Steroid
		0	8	0,00	Merah muda pudar	Terpenoid
		0,3	8	0,04	Hijau muda pudar	Steroid
		3	8	0,38	Biru muda pudar	Steroid
		3,7	8	0,46	Biru muda	Steroid
Fraksi n-Heksana	10	5,1	8	0,64	Merah pudar	Terpenoid
		5,5	8	0,69	Merah pudar	Terpenoid
		6	8	0,75	Merah pudar	Terpenoid
		6,3	8	0,79	Merah	Terpenoid
		6,8	8	0,85	Merah muda	Terpenoid
		7,3	8	0,91	Biru muda terang	Steroid

L4.7.3 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Flavonoid

Tabel L4.22 Data penampakan noda dugaan senyawa flavonoid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ_{366} nm

Eluen	Sampel	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
Kloroform : Metanol (7:3)	Ekstrak Metanol	14	0; 0,6; 1,4; 2,2; 2,9; 3,7; 4,3; 4,8; 5,2; 5,7; 6,1; 6,5; 6,8; 7,2	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	15	0; 0,7; 1,6; 2,5; 3,2; 3,7; 4,2; 4,7; 4,9; 5,2; 5,4; 5,7; 6; 6,4; 6,9	Terpisah
	Fraksi n-heksana	12	0; 0,8; 1,7; 2,3; 2,8; 3,7; 4,5; 4,6; 5,2; 5,8; 6,2; 6,3	Terpisah
n-Butanol : Asam Asetat : Air (4:1:5)	Ekstrak Metanol	8	2,2; 2,5; 3,3; 3,9; 4,7; 5,8; 6,5; 7,1	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil	5	3,8; 4,6; 5,7; 6,4; 7	Terpisah

		Asetat			
n-Butanol : Asam Asetat : Air (3:1:1)	Fraksi n- Heksana	7	3,1; 3,8; 4,2; 5,6; 6,2; 6,5; 7	Terpisah	
	Ekstrak Metanol	9	4,2; 4,5; 4,9; 5,3; 5,9; 6,3; 6,8; 7,1; 7,3	Terpisah	
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah	
	Fraksi Etil Asetat	9	4,6; 4,9; 5,2; 5,5; 6; 6,3; 6,6; 6,9; 7,3	Terpisah	
	Fraksi n- Heksana	7	4,9; 5,7; 6,2; 6,7; 6,8; 7; 7,2	Terpisah	
n-Heksana : Etil Asetat (5:5)	Ekstrak Metanol	7	0; 0,3; 5,6; 6,3; 6,7; 6,9; 7,1	Terpisah	
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah	
	Fraksi Etil Asetat	6	0; 0,3; 0,5; 6,7; 7; 7,2	Terpisah	
	Fraksi n- Heksana	9	0; 0,3; 5,1; 5,7; 6,2; 6,8; 7,1; 7,2; 7,4	Terpisah	
n-Heksana : Etil Asetat (9:1)	Ekstrak Metanol	5	0; 0,3; 0,8; 1,2; 7	Terpisah	
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah	
	Fraksi Etil Asetat	4	0; 0,2; 0,4; 0,8	Terpisah	
	Fraksi n- Heksana	10	0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,7; 2,5; 3,1; 5,2; 6,2; 7	Terpisah	

- Hasil KLTA Senyawa Flavonoid Eluen Kloroform : Metanol (4:1:5)

Tabel L4.23 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	8	2,2	8	0,28	Kelabu	Flavonoid
		2,5	8	0,31	Biru keunguan	Tanin
		3,3	8	0,41	Biru keunguan	Tanin
		3,9	8	0,49	Kelabu	Flavonoid
		4,7	8	0,59	Ungu	Tanin
		5,8	8	0,73	Ungu	Tanin
		6,5	8	0,81	Jingga	Flavonoid
7,1	8	0,89	Jingga	Flavonoid		
Fraksi air	1	0	8	0	Ungu pudar	-
Fraksi Etil Asetat	5	3,8	8	0,48	Kelabu	Flavonoid
		4,6	8	0,58	Ungu	Tanin
		5,7	8	0,71	Ungu	Tanin
		6,4	8	0,80	Jingga muda	Flavonoid
		7	8	0,88	Jingga	Flavonoid
Fraksi n- Heksana	7	3,1	8	0,39	Ungu pudar	Tanin
		3,8	8	0,48	Ungu pudar	Tanin

	4,2	8	0,53	Biru muda terang	Steroid
	5,6	8	0,70	Ungu pudar	Tanin
	6,2	8	0,78	Ungu pudar	Tanin
	6,5	8	0,81	Merah muda	Terpenoid
	7	8	0,88	Merah	Terpenoid

- Hasil KLTA Senyawa Flavonoid Eluen Kloroform : Metanol (7:3)

Tabel L4.24 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen kloroform : metanol (7:3)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	14	0	8	0,00	Biru kehitaman	Tanin
		0,6	8	0,08	Hijau kekuningan	Flavonoid
		1,4	8	0,18	Ungu pudar	-
		2,2	8	0,28	Hijau kekuningan	Flavonoid
		2,9	8	0,36	Ungu pudar	-
		3,7	8	0,46	Merah	Terpenoid
		4,3	8	0,54	Merah muda	Terpenoid
		4,8	8	0,60	Merah	Terpenoid
		5,2	8	0,65	Ungu pudar	-
		5,7	8	0,71	Merah muda	Terpenoid
		6,1	8	0,76	Ungu	Tanin
		6,5	8	0,81	Merah muda	Terpenoid
		6,8	8	0,85	Merah muda terang	Terpenoid
		7,2	8	0,90	Jingga kemerah muda	Flavonoid
Fraksi air	1	0	8	0	Ungu terang	-
Fraksi Etil Asetat	15	0	8	0,00	Ungu kecoklatan	Tanin
		0,7	8	0,09	Hijau kekuningan	Flavonoid
		1,6	8	0,20	Ungu pudar	Tanin
		2,5	8	0,31	Hijau kekuningan	Flavonoid
		3,2	8	0,40	Ungu pudar	Tanin
		3,7	8	0,46	Merah muda gelap	Terpenoid
		4,2	8	0,53	Ungu pudar	Tanin
		4,7	8	0,59	Merah muda gelap	Terpenoid
		4,9	8	0,61	Ungu pudar	Tanin
		5,2	8	0,65	Merah muda gelap	Terpenoid
		5,4	8	0,68	Ungu Kecoklatan	Tanin
		5,7	8	0,71	Merah muda	Terpenoid
		6	8	0,75	Ungu pudar	Tanin
		6,4	8	0,80	Merah muda pudar	Terpenoid
6,9	8	0,86	Jingga pudar	Flavonoid		
Fraksi n-Heksana	12	0	8	0,00	Ungu pudar	Tanin
		0,8	8	0,10	Ungu pudar	Tanin
		1,7	8	0,21	Biru keunguan	Tanin
		2,3	8	0,29	Merah muda pudar	Terpenoid
		2,8	8	0,35	Merah muda	Terpenoid
		3,7	8	0,46	Merah muda	Terpenoid
		4,5	8	0,56	Merah muda gelap	Terpenoid
		4,6	8	0,58	Merah muda	Terpenoid

	5,2	8	0,65	Merah muda	Terpenoid
	5,8	8	0,73	Merah muda terang	Terpenoid
	6,2	8	0,78	Merah muda pudar	Terpenoid
	6,3	8	0,79	Merah kehitaman	Terpenoid

- Hasil KLTA Senyawa Flavonoid Eluen n-Butanol : Asam Asetat : Air (3:1:1)

Tabel L4.25 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-butanol : asam asetat : air (3:1:1)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	9	4,2	8	0,53	Biru muda	Steroid
		4,5	8	0,56	Biru muda	Steroid
		4,9	8	0,61	Biru pudar	Steroid
		5,3	8	0,66	Biru muda	Steroid
		5,9	8	0,74	Biru kehitaman	Tanin
		6,3	8	0,79	Biru keunguan	Tanin
		6,8	8	0,85	Biru muda	Steroid
		7,1	8	0,89	Merah	Flavonoid
		7,3	8	0,91	Jingga muda	Flavonoid
Fraksi air	1	7	8	0,88	Biru muda pudar	Steroid
Fraksi Etil Asetat	9	4,6	8	0,58	Biru keunguan	Flavonoid
		4,9	8	0,61	Biru keunguan	Flavonoid
		5,2	8	0,65	Biru muda	Steroid
		5,5	8	0,69	Biru muda pudar	Steroid
		6	8	0,75	Ungu	Flavonoid
		6,3	8	0,79	Biru muda	Steroid
		6,6	8	0,83	Biru muda terang	Steroid
		6,9	8	0,86	Jingga	Flavonoid
		7,3	8	0,91	Jingga muda terang	Flavonoid
Fraksi n-Heksana	7	4,9	8	0,61	Biru muda	Steroid
		5,7	8	0,71	Biru muda pudar	Steroid
		6,2	8	0,78	Biru muda terang	Steroid
		6,7	8	0,84	Biru muda pudar	Steroid
		6,8	8	0,85	Merah muda	Terpenoid
		7	8	0,88	Merah	Flavonoid
		7,2	8	0,90	Merah muda terang	Terpenoid

- Hasil KLTA Senyawa Flavonoid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (5:5)

Tabel L4.26 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-Heksana : Etil Asetat (5:5)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	7	0	8	0,00	Ungu	Flavonoid
		0,3	8	0,04	Ungu pudar	-
		5,6	8	0,70	Ungu pudar	-

		6,3	8	0,79	Ungu pudar	-
		6,7	8	0,84	Merah muda pudar	Terpenoid
		6,9	8	0,86	Merah muda pudar	Terpenoid
		7,1	8	0,89	Hijau kekuningan	Flavonoid
Fraksi air	1	0	8	0,00	Biru muda	Steroid
		0	8	0,00	Ungu	Flavonoid
Fraksi Etil Asetat	6	0,3	8	0,04	Ungu	Flavonoid
		0,5	8	0,06	Biru muda	Steroid
		6,7	8	0,84	Hijau kekuningan	Flavonoid
		7	8	0,88	Merah muda terang	Terpenoid
		7,2	8	0,90	Hijau kekuningan	Flavonoid
		0	8	0,00	Kelabu	Flavonoid
		0,3	8	0,04	Hijau kekuningan	Flavonoid
		5,1	8	0,64	Kelabu	Flavonoid
Fraksi n-Heksana	9	5,7	8	0,71	Hijau kekuningan	Flavonoid
		6,2	8	0,78	Kelabu	Flavonoid
		6,8	8	0,85	Merah muda	Terpenoid
		7,1	8	0,89	Merah muda terang	Terpenoid
		7,2	8	0,90	Merah muda gelap	Terpenoid
		7,4	8	0,93	Hijau muda terang	Flavonoid

- Hasil KLTA Senyawa Flavonoid Eluen n-Heksana : Etil Asetat (9:1)

Tabel L4.27 Hasil pemisahan KLTA senyawa flavonoid eluen n-Heksana : Etil Asetat (9:1)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
		0	8	0,00	Ungu	Flavonoid
Ekstrak Metanol	5	0,3	8	0,04	Merah muda pudar	Terpenoid
		0,8	8	0,10	Merah muda pudar	Terpenoid
		1,2	8	0,15	Biru muda	Steroid
		7	8	0,88	Hijau kekuningan	Flavonoid
Fraksi air	1	0	8	0,00	Biru muda pudar	Steroid
		0	8	0,00	Ungu	Flavonoid
Fraksi Etil Asetat	4	0,2	8	0,03	Biru muda	Steroid
		0,4	8	0,05	Biru muda	Steroid
		0,8	8	0,10	Biru muda	Steroid
		0	8	0,00	Merah	Flavonoid
		0,4	8	0,05	Merah kehitaman	Terpenoid
		0,8	8	0,10	Merah kehitaman	Terpenoid
		1,2	8	0,15	Biru muda terang	Steroid
Fraksi n-Heksana	10	1,7	8	0,21	Biru muda terang	Steroid
		2,5	8	0,31	Biru muda	Steroid
		3,1	8	0,39	Biru muda	Steroid
		5,2	8	0,65	Biru muda	Steroid
		6,2	8	0,65	Biru muda	Steroid
		7	8	0,88	Hijau kekuningan	Flavonoid

L4.7.4 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Alkaloid

Tabel L4.28 Data penampakan noda dugaan senyawa alkaloid fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ_{366} nm

Eluen	Sampel	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
Kloroform : Metanol (9:1)	Ekstrak Metanol	13	0; 0,3; 0,7; 1,6; 2,5; 3,2; 4,2; 4,7; 5,6; 6; 6,2; 6,6; 7,1; 7,3	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	12	0; 0,4; 0,7; 1,2; 1,5; 2,3; 2,9; 2,8; 4,5; 6,3; 7; 7,3	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	12	0; 0,8; 1,5; 1,6; 2,3; 3; 3,7; 4,5; 5,8; 6,4; 7; 7,2	Terpisah
Kloroform : Metanol (2:8)	Ekstrak Metanol	9	0; 4,8; 5,1; 5,5; 6; 6,5; 6,7; 7; 7,3	Terpisah
	Fraksi Air	4	0; 5,3; 5,9; 7,2	Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	8	0; 5,3; 5,6; 5,9; 6,2; 6,5; 6,8; 7,3	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	7	0; 5,1; 5,4; 5,9; 6,2; 6,5; 6,9	Terpisah

- Hasil KLTA Senyawa Alkaloid Eluen Kloroform : Metanol (9:1)

Tabel L4.29 Hasil pemisahan KLTA senyawa alkaloid eluen kloroform : metanol (9:1)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	13	0	8	0,00	Biru kehitaman	Tanin
		0,3	8	0,04	Biru keunguan	Tanin
		0,7	8	0,09	Biru keunguan	Tanin
		1,6	8	0,20	Merah muda pudar	Terpenoid
		2,5	8	0,31	Merah muda gelap	Terpenoid
		3,2	8	0,40	Ungu pudar	Tanin
		4,2	8	0,53	Merah muda gelap	Terpenoid
		4,7	8	0,59	Merah kekuningan	Alkaloid
		5,6	8	0,70	Ungu pudar	Tanin
		6	8	0,75	Ungu pudar	Tanin
		6,2	8	0,78	Ungu pudar	Tanin
		6,6	8	0,83	Merah muda	Terpenoid
		7,1	8	0,89	Merah muda terang	Terpenoid
7,3	8	0,91	Merah muda	Terpenoid		
Fraksi air	1	0	8	0	Putih	-
Fraksi Etil Asetat	12	0	8	0,00	Biru kehitaman	Tanin
		0,4	8	0,05	Biru keunguan	Tanin
		0,7	8	0,09	Ungu pudar	Tanin
		1,2	8	0,15	Biru keunguan	Tanin

		1,5	8	0,19	Merah kekuningan	Alkaloid
		2,3	8	0,29	Merah muda	Terpenoid
		2,9	8	0,36	Ungu pudar	Tanin
		2,8	8	0,35	Merah muda gelap	Terpenoid
		4,5	8	0,56	Merah muda gelap	Terpenoid
		6,3	8	0,79	Ungu pudar	Tanin
		7	8	0,88	Merah muda pudar	Terpenoid
		7,3	8	0,91	Merah muda terang	Terpenoid
		0	8	0,00	Kuning kemerahan	Alkaloid
		0,8	8	0,10	Kuning Kemerahan	Alkaloid
		1,5	8	0,19	Biru keunguan	Tanin
		1,6	8	0,20	Merah	Terpenoid
		2,3	8	0,29	Merah muda gelap	Terpenoid
Fraksi n-Heksana	12	3	8	0,38	Merah muda terang	Terpenoid
		3,7	8	0,46	Merah muda gelap	Terpenoid
		4,5	8	0,56	Merah muda gelap	Terpenoid
		5,8	8	0,73	Merah muda terang	Terpenoid
		6,4	8	0,80	Merah muda pudar	Terpenoid
		7	8	0,88	Merah muda pudar	Terpenoid
		7,2	8	0,90	Merah kehitaman	Terpenoid

- Hasil KLTA Senyawa Alkaloid Eluen Kloroform : Metanol (2:8)

Tabel L4.30 Hasil pemisahan KLTA senyawa alkaloid eluen kloroform : metanol (2:8)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	9	0	8	0,00	Ungu pudar	-
		4,8	8	0,60	Ungu terang	-
		5,1	8	0,64	Merah pudar	Terpenoid
		5,5	8	0,69	Ungu terang	-
		6	8	0,75	Merah muda gelap	Terpenoid
		6,5	8	0,81	Ungu pudar	-
		6,7	8	0,84	Merah muda terang	Terpenoid
		7	8	0,88	Merah muda	Terpenoid
		7,3	8	0,91	Merah	Terpenoid
Fraksi air	4	0	8	0	Ungu pudar	-
		5,3	8	0,66	Ungu terang	-
		5,9	8	0,74	Merah Kekuningan	Alkaloid
		7,2	8	0,9	Merah kekuningan	Alkaloid
Fraksi Etil Asetat	8	0	8	0,00	Ungu gelap	Tanin
		5,3	8	0,66	Merah muda gelap	Terpenoid
		5,6	8	0,70	Merah muda	Terpenoid
		5,9	8	0,74	Ungu kecoklatan	Tanin
		6,2	8	0,78	Merah muda	Terpenoid
		6,5	8	0,81	Ungu pudar	-
		6,8	8	0,85	Merah muda terang	Terpenoid
7,3	8	0,91	Merah muda	Terpenoid		
Fraksi n-Heksana	7	0	8	0,00	Ungu pudar	-
		5,1	8	0,64	Ungu terang	-
		5,4	8	0,68	Merah muda gelap	Terpenoid

5,9	8	0,74	Merah muda	Terpenoid
6,2	8	0,78	Merah muda terang	Terpenoid
6,5	8	0,81	Merah muda terang	Terpenoid
6,9	8	0,86	Merah muda gelap	Terpenoid

L4.7.5 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Tanin

Tabel L4.31 Data penampakan noda dugaan senyawa tanin fraksi dan ekstrak daun beluntas dengan beberapa variasi eluen pada λ_{366} nm

Eluen	Sampel	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
n-Butanol : Asam Asetat : Air (4:1:5)	Ekstrak Metanol	8	2,2; 2,5; 3,3; 3,9; 4,7; 5,8; 6,5; 7,1	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	5	3,8; 4,6; 5,7; 6,4; 7	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	7	3,1; 3,8; 4,2; 5,6; 6,2; 6,5; 7	Terpisah
n-Heksana : Etil Asetat (6:4)	Ekstrak Metanol	12	0; 0,3; 0,7; 1; 1,4; 3,2; 3,9; 5,3; 5,7; 6,1; 6,4; 7,3;	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	10	0; 0,2; 0,4; 0,9; 1,5; 3,8; 5,3; 5,8; 6,1; 6,5	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	10	0; 0,3; 3; 3,7; 5,1; 5,5; 6; 6,3; 6,8; 7,3	Terpisah
n-Heksana : Etil Asetat (19:1)	Ekstrak Metanol	3	0; 0,2	Terpisah
	Fraksi Air	1	0	Tidak Terpisah
	Fraksi Etil Asetat	2	0; 0,1	Terpisah
	Fraksi n-Heksana	3	0; 0,4; 0,7	Terpisah

- Hasil KLTA Senyawa Tanin Eluen n-Heksana : Etil Asetat (4:1:5)

Tabel L4.32 Hasil pemisahan KLTA senyawa tanin eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	8	2,2	8	0,28	Ungu pudar	Tanin
		2,5	8	0,31	Biru keunguan	Tanin
		3,3	8	0,41	Biru keunguan	Tanin
		3,9	8	0,49	Biru terang	Steroid
		4,7	8	0,59	Ungu kehitaman	Tanin
		5,8	8	0,73	Ungu kehitaman	Tanin
		6,5	8	0,81	Merah muda terang	Terpenoid
		7,1	8	0,89	Merah muda gelap	Terpenoid
Fraksi air	1	0	8	0	Ungu pudar	-

Fraksi Etil Asetat	5	3,8	8	0,48	Ungu pudar	Tanin
		4,6	8	0,58	Ungu kehitaman	Tanin
		5,7	8	0,71	Ungu kehitaman	Tanin
		6,4	8	0,80	Merah muda gelap	Terpenoid
		7	8	0,88	Merah muda terang	Terpenoid
Fraksi n-Heksana	7	3,1	8	0,39	Ungu pudar	Tanin
		3,8	8	0,48	Ungu pudar	Tanin
		4,2	8	0,53	Biru muda terang	Steroid
		5,6	8	0,70	Ungu pudar	Tanin
		6,2	8	0,78	Ungu pudar	Tanin
		6,5	8	0,81	Merah muda terang	Terpenoid
		7	8	0,88	Merah muda gelap	Terpenoid

- Hasil KLTA Senyawa Tanin Eluen n-Heksana : Etil Asetat (6:4)

Tabel L4.33 Hasil pemisahan KLTA senyawa tanin eluen n-Heksana : Etil Asetat (6:4)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	12	0	8	0,00	Ungu kehitaman	Tanin
		0,3	8	0,04	Biru muda pudar	Steroid
		0,7	8	0,09	Biru Muda	Steroid
		1	8	0,13	Biru muda	Steroid
		1,4	8	0,18	Biru muda	Steroid
		3,2	8	0,40	Biru muda	Steroid
		3,9	8	0,49	Biru muda	Steroid
		5,3	8	0,66	Merah muda	Terpenoid
		5,7	8	0,71	Merah muda	Terpenoid
		6,1	8	0,76	Hijau Muda terang	Steroid
Fraksi air	1	6,4	8	0,80	Hijau muda terang	Steroid
		7,3	8	0,91	Biru muda terang	Steroid
		0	8	0	Putih kehijauan	
		0	8	0,00	Ungu kehitaman	Tanin
		0,2	8	0,03	Biru muda pudar	Steroid
		0,4	8	0,05	Biru keunguan	Tanin
		0,9	8	0,11	Biru keunguan	Tanin
		1,5	8	0,19	Biru keunguan	Tanin
Fraksi Etil Asetat	9	3,8	8	0,48	Biru muda	Steroid
		5,3	8	0,66	Biru muda	Steroid
		5,8	8	0,73	Merah muda pudar	Terpenoid
		6,1	8	0,76	Biru muda pudar	Steroid
		6,5	8	0,81	Biru muda pudar	Steroid
		0	8	0,00	Merah muda pudar	Terpenoid
		0,3	8	0,04	Hijau muda pudar	Steroid
		3	8	0,38	Biru muda pudar	Steroid
Fraksi n-Heksana	10	3,7	8	0,46	Biru muda	Steroid
		5,1	8	0,64	Merah Muda	Terpenoid
		5,5	8	0,69	Merah muda	Terpenoid
		6	8	0,75	Merah muda	Terpenoid
		6,3	8	0,79	Merah	Terpenoid

6,8	8	0,85	Merah muda pudar	Terpenoid
7,3	8	0,91	Biru Muda terang	Steroid

- Hasil KLTA Senyawa Tanin Eluen n-Heksana : Etil Asetat (19:1)

Tabel L4.34 Hasil pemisahan KLTA senyawa tanin eluen n-Heksana : Etil Asetat (19:1)

Sampel	Jumlah Noda	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda Pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa Positif
		Noda	Eluen			
Ekstrak Metanol	2	0,0	8	0,00	Biru keunguan	Tanin
		0,2	8	0,03	Biru muda	Steroid
Fraksi air	1	0	8	0,00	Biru muda pudar	Steroid
Fraksi Etil Asetat	2	0	8	0,00	Biru keunguan	Tanin
		0,1	8	0,01	Biru muda	Steroid
Fraksi n-Heksana	3	0	8	0,00	Merah kehitaman	Terpenoid
		0,4	8	0,05	Merah Muda pudar	Terpenoid
		0,7	8	0,09	Biru muda	Steroid

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

L5.1 Preparasi Sampel Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)



Pemetikan



Pencucian



Pengeringan



Serbuk Sampel

L5.2 Analisis Kadar Air



Pengaktifan silika



Pengovenan serbuk



Pengonstanan



Penimbangan

L5.3 Maserasi



Penimbangan



Perendaman hari I



Perendaman hari II



Perendaman hari III



Penyaringan



Pemekatan

Pengaliran gas N₂

Ekstrak pekat

L5.4 Hidrolisis



Penambahan asam



Penambahan NaHCO_3



Ekstrak pekat hasil hidrolisis

L5.5 Partisi



Partisi n-heksana



Partisi etil-asetat



Fraksi n-heksana



Fraksi etil asetat



Fraksi air



fraksi pekat n-heksana



fraksi pekat etil asetat



fraksi pekat air

L5.6 Uji Antioksidan



Ekstrak metanol + DPP



Fraksi n-heksana + DPPH



Fraksi etil asetat + DPPH



Fraksi air + DPPH

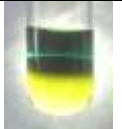








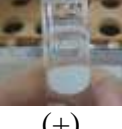






Asam askorbat + DPPH



BHT + DPPH

L5.7 Uji Fitokimia

	Ekstrak Metanol	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Steroid/ Terpenoid	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)
Flavonoid	 (+)	 (-)	 (+)	 (+)
Alkaloid				
- Mayer	 (-)	 (-)	 (-)	 (+)
- Dragendorff	 (-)	 (-)	 (-)	 (+)
Saponin	 (+)	 (-)	 (+)	 (+)
Asam Askorbat	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)
Tanin	 (+)	 (-)	 (+)	 (+)

L5.8 KLTA



Proses elusi



Pengamatan

L5.9 Identifikasi Menggunakan FT-IR



Larutan stok uji