

**UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) HASIL SONIKASI
DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

**Oleh:
ANIS MIFTAHATUL JANNAH
NIM. 16630017**



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

**UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) HASIL SONIKASI
DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

**Oleh:
ANIS MIFTAHATUL JANNAH
NIM. 16630017**

**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**

**UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) HASIL SONIKASI
DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

**Oleh:
ANIS MIFTAHATUL JANNAH
NIM. 16630017**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 November 2021**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIDT. 19900906 20180201 2 239**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



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

HALAMAN PENGESAHAN
UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) HASIL SONIKASI
DENGAN VARIASI PELARUT

SKRIPSI

Oleh:
ANIS MIFTAHATUL JANNAH
NIM. 16630017

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 03 Desember 2021

Penguji Utama	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	
Ketua Penguji	: Rif'atul Mahmudah, M.Si NIP. 19830125 20160801 2 068	
Sekretaris Penguji	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	
Anggota Penguji	: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc NIDT. 19900906 20180201 2 239	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi



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

PERNYATAAN KEKASLIAN TULISAN

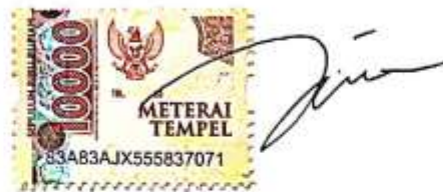
Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Anis Miftahatul Jannah
NIM : 16630017
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Hasil Sonikasi dengan Variasi Pelarut

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, 23 Desember 2021

Yang membuat pernyataan



Anis Miftahatul Jannah

NIM. 16630017

MOTTO

Kebanggaan itu datang ketika kamu percaya. Kebahagiaan itu datang ketika kamu berusaha. Percaya dengan apa yang kamu kerjakan. Dan cintai apa yang kamu usahakan.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil alamin..

Sujud syukur dan puji tiada henti kepada Allah Yang Maha Agung, yang telah menggariskan takdir terbaik dari butir-butir harapan yang tak pernah lelah untuk kulangkitkan. Sutradara terbaik yang mampu membawaku sekuat ini untuk sampai pada titik awal bagiku menuju impian-impian besarku.

Kepada ayah dan ibu tersayang dan tercinta, Bapak H.Sukairi dan Ibu Hj. Siti Halimah dua Malaikat Tuhan yang tak bersayap yang telah membimbing, membesarkan, dan menerima segala kekurangan maupun kelebihan saya. Terima kasih untuk setiap kasih sayang, doa, kekuatan, ridho, restu, dan segalanya hingga saya mampu sampai berada pada titik ini.

Kepada kakak saya Khoirul Mutaqqin, adikku Dina Amalia dan Kurnia Bagus Julianto, kakak ipar saya Thoriqul Hidayah, keponakan saya Alkhalifi Zikri Hamizan, dan seluruh keluarga saya. Terima kasih telah menjadi penguat, penyemangat, dan selalu memberikan dukungan serta doa dalam setiap langkah saya.

Untuk calon suami saya tersayang dan tercinta, Fajar Adi Ridho, S.T terima kasih atas waktu yang kau berikan untuk menemaniku, mendengarkan segala keluh kesahku. Terima kasih atas doa, semangat, dan motivasi yang selalu kau berikan kepadaku.

Untuk teman yang sudah seperti saudara saya sendiri Nur Dana N. S., S.Mat dan Nur Elisa terima kasih untuk setiap doa baik, perhatian, dukungan, dan waktu yang kalian berikan untuk menemaniku sejak aku merantau di Malang hingga sampai pada detik ini.

Teman seperjuangan, Umi Aniatul Jannah yang telah berjuang bersama, saling menguatkan, dan saling memotivasi dalam berjuang untuk memperoleh gelar sarjana.

Teman-teman seperjuangan Kimia 2016 khususnya kelas A, yang memberi saya semangat dan doa kepada saya.

KATA PENGANTAR



Alhamdulillah, puji syukur kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Hasil Sonikasi dengan Variasi Pelarut”**. Skripsi ini mampu memberikan banyak manfaat bagi penulis baik dari segi keilmuan maupun pengalaman yang sangat berguna bagi penulis.

Tidak ada pekerjaan yang dapat terselesaikan tanpa bantuan dari pihak lain demikian juga skripsi ini. penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian laporan hasil ini, khususnya kepada

1. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, dan selaku Dosen Pembimbing Skripsi.
2. Ibu Lulu’atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama.
3. Segenap Dosen Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
4. Teman-teman di Laboratorium Organik Program Studi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ayah dan Ibu tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
6. Kakak dan adik, serta seluruh keluarga yang selalu memberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
7. Keluarga besar Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Teman-teman seperjuangan di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.

Penulis sebagai manusia biasa yang takkan pernah luout dari salah dan dosa, menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan baik dari segi

ilmu maupun susunan bahasanya. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut. Aamiin.

Malang, 20 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Daun Salam.....	7
2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik	8
2.3 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak Daun Salam.....	11
2.4 Antioksidan.....	12
2.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	13
2.6 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis	15
2.7 Identifikasi dengan Spektrofotometer FTIR.....	17
2.8 Uji Fitokimia.....	19
2.8.1 Flavonoid.....	19
2.8.2 Saponin.....	21
2.8.3 Tanin	22
2.8.4 Alkaloid.....	23
2.8.5 Triterpenoid	24
2.9 Menurut Perspektif Pandangan Islam	24
BAB III METODOLOGI	27
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	27
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.2.1 Alat	27
3.2.2 Bahan	27
3.3 Rancangan Penelitian	28
3.4 Tahapan Penelitian.....	28

3.4.1 Preparasi Sampel	29
3.4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik	29
3.4.3 Hidrolisis Senyawa Aktif	30
3.4.4 Uji Fitokimia	30
3.4.4.1 Uji Flavonoid.....	30
3.4.4.2 Uji Saponin.....	30
3.4.4.3 Uji Tanin	31
3.4.4.4 Uji Alkaloid.....	31
3.4.4.5 Uji Triterpenoid	31
3.4.5 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	32
3.4.6 Identifikasi dengan FTIR	32
3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	32
3.4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	32
3.4.7.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	32
3.4.8 Analisis Data	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Preparasi Sampel.....	34
4.2 Ekstraksi Gelombang Ultrasonik Daun Salam dengan Variasi Pelarut ..	35
4.3 Hidrolisis	36
4.4 Uji Fitokimia.....	38
4.4.1 Flavonoid.....	39
4.4.2 Saponin.....	40
4.4.3 Tanin	41
4.4.4 Alkaloid	42
4.4.5 Triterpenoid	43
4.5 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis	45
4.6 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan FTIR	47
4.6.1 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak Etanol Daun Salam ...	48
4.6.2 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak Etil Asetat Daun Salam	49
4.6.3 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak n-Heksan Daun Salam	50
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Daun Salam dengan Metode DPPH	53
4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	53
4.7.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel.....	54
4.8 Pemanfaatan Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) sebagai Obat dalam Perspektif Islam.....	56
BAB V PENUTUP	60
5.1 Kesimpulan.....	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN	70

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Karakteristik penyerapan beberapa kromofor	17
Tabel 2.1	Frekuensi inframerah	19
Tabel 4.1	Hasil rendemen ekstrak daun salam dari berbagai pelarut	35
Tabel 4.2	Hasil uji senyawa metabolit sekunder dari berbagai pelarut	38
Tabel 4.3	Interpretasi spektra FTIR ekstrak etanol daun salam sebelum hidrolis dan sesudah hidrolisis	48
Tabel 4.4	Interpretasi spektra FTIR ekstrak etil asetat daun salam sebelum hidrolis dan sesudah hidrolisis	50
Tabel 4.5	Interpretasi spektra FTIR ekstrak n-Heksan daun salam sebelum hidrolis dan sesudah hidrolisis	51
Tabel 4.6	Data hasil % aktivitas antioksidan dan nilai EC50 dari berbagai hasil hidrolisis pelarut	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	7
Gambar 2.2	Representasi Grafis dari Kavitas-Gelembung Runtuh	9
Gambar 2.3	Dugaan reaksi hidrolisis ikatan O-glikosida	12
Gambar 2.4	Struktur DPPH	13
Gambar 2.5	Reaksi Antara Antioksidan dengan Molekul DPPH	14
Gambar 2.6	Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis	16
Gambar 2.7	Identifikasi Daun Salam Menggunakan FTIR	18
Gambar 2.8	Struktur Flavonoid	20
Gambar 2.9	Struktur dan Senyawa Golongan Flavonoid	20
Gambar 2.10	Struktur Saponin	21
Gambar 2.11	Struktur Senyawa Tanin	22
Gambar 2.12	Struktur Alkaloid	23
Gambar 2.13	Struktur dasar Triterpenoid	24
Gambar 4.1	Serbuk daun salam	34
Gambar 4.2	Ekstrak kasar daun salam dari berbagai pelarut	36
Gambar 4.3	Reaksi antara HCl dan NaHCO ₃	37
Gambar 4.4	Hidrolis ekstrak kasar daun salam dari berbagai pelarut	37
Gambar 4.5	Reaksi dugaan flavonoid dengan logam Mg dan Cl	39
Gambar 4.6	Dugaan reaksi uji saponin	41
Gambar 4.7	Reaksi dugaan tanin dengan FeCl ₃	42
Gambar 4.8	Reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff	43
Gambar 4.9	Reaksi dugaan uji triterpenoid	45
Gambar 4.10	Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak etanol	46
Gambar 4.11	Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak etil asetat	46
Gambar 4.12	Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak n-heksana	47
Gambar 4.13	Hasil spektra FTIR ekstrak etanol	48
Gambar 4.14	Hasil spektra FTIR ekstrak etil asetat	49
Gambar 4.15	Hasil spektra FTIR ekstrak n-Heksana	51
Gambar 4.16	Struktur senyawa auron golongan flavonoid	52
Gambar 4.17	Struktur senyawa flavanon golongan flavonoid	53
Gambar 4.18	Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian	70
Lampiran 2. Skema Kerja	71
Lampiran 3. Perhitungan	74
Lampiran 4. Perhitungan Randemen	78
Lampiran 5. Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam	79
Lampiran 6. Hasil Uji Spektrofotometer UV-Vis.....	89
Lampiran 7. Hasil Data FTIR	97
Lampiran 8. Dokumen Penelitian	100

ABSTRAK

Jannah, A. M. 2021. **Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Hasil Sonikasi dengan Variasi Pelarut**. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

Kata Kunci: Daun salam (*Syzygium polyanthum*), aktivitas antioksidan, ekstraksi ultrasonik, uji fitokimia

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan tanaman iklim tropis seperti Indonesia, pada daun tanaman ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun salam dan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun salam pada variasi pelarut dengan metode DPPH.

Daun salam diekstrak menggunakan metode ultrasonik dengan variasi pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana. kemudian dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan dinetralkan dengan natrium bikarbonat. Identifikasi senyawa aktif daun salam dilakukan dengan uji fitokimia, UV-Vis, dan spektrofotometer FTIR. Hasil dari masing-masing ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

Hasil uji fitokimia daun salam menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Ekstrak etil asetat mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid. Sedangkan ekstrak n-heksana mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan hasil bahwa pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana terdapat transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Identifikasi menggunakan FTIR ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana sebelum hidrolisis menunjukkan adanya serapan gugus O-H *stretch*, C-H alifatik, dan C=C *stretch*. Sedangkan ekstrak etanol setelah hidrolisis menunjukkan adanya gugus O-H *stretch* dan C-H alifatik. Ekstrak etil asetat setelah hidrolisis terdapat gugus O-H *stretch*, C-H alifatik, dan C=C *stretch*. Ekstrak n-heksana setelah hidrolisis terdapat serapan gugus O-H *stretch* dan =C-H. Untuk nilai aktivitas antioksidan (EC_{50}) ekstrak daun salam didapatkan masing-masing 57,24 ppm untuk ekstrak etanol, 87,71 ppm untuk ekstrak etil asetat, dan 26,11 ppm untuk ekstrak n-heksana.

ABSTRACT

Jannah, A. M. 2021. **Phytochemical Test and Antioxidant Activity Test of Salam Leaf Extract (*Syzygium olyanthum*) Sonicated with Variation of Solvents**. Essay. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Advisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

Keywords: Salam leaf (*Syzygium polyanthum*), antioxidant activity, ultrasonic extraction, phytochemical test

Salam leaf (*Syzygium polyanthum*) is a tropical climate plant like Indonesia, the leaves of this plant contain secondary metabolite compounds that can be used as medicinal plants. The purpose of this study was to determine the class of secondary metabolites from bay leaf extract and to determine the antioxidant activity of bay leaf extract in various solvents using the DPPH method.

Salam leaves were extracted using ultrasonic method with various solvents of ethanol, ethyl acetate, and n-hexane. Then hydrolyzed using 2 N HCl and neutralized with sodium bicarbonate. Identification of the active compound of salam leaf was carried out by phytochemical test, UV-Vis, and FTIR spectrophotometer. The results of each extract were tested for antioxidant activity by the DPPH method.

The results of the phytochemical test of bay leaf showed that the ethanol extract contained flavonoid compounds, saponins, and tannins. Ethyl acetate extract contains flavonoid compounds, tannins, and alkaloids. While the n-hexane extract contains alkaloids and triterpenoids. Identification using UV-Vis spectrophotometer showed that the ethanol, ethyl acetate and n-hexane extracts contained electron transitions $n \rightarrow \pi^*$ indicating the presence of flavonoid compounds. Identification using FTIR extracts of ethanol, ethyl acetate, and n-hexane before hydrolysis showed the absorption of O-H stretch, aliphatic C-H, and C=C stretch groups. Meanwhile, the ethanol extract after hydrolysis showed the presence of aliphatic O-H and C-H groups. The ethyl acetate extract after hydrolysis contained O-H stretch, C-H aliphatic, and C=C stretch groups. The n-hexane extract after hydrolysis contained O-H stretch and =C-H group. The value of antioxidant activity (EC50) of bay leaf extract was 57.24 ppm for ethanol extract, 87.71 ppm for ethyl acetate extract, and 26.11 ppm for n-hexane extract.

ملخص البحث

جنت، أ. م. ٢٠٢١. تجربة فيتوكيمياء و تجربة عمل انتي او كسيدان خلع ورقة سلام (*Syzygium polyanthum*) حاصل سونيكاسي بصنف مسيل. البحث العلمي. القسم الكيمياء، كلية العلم و التكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الرسمية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: رحمواتي نينجسيه، الماجستير. المشرفة الثانية: لؤلئة الحمدة عليا، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: ورقة سلام (*Syzygium polyanthum*)، عمل انتي او كسيدان، خلع اولتراسونيك، تجربة فيتوكيمياء.

كانت ورقة سلام (*Syzygium polyanthum*) هي نبات القلقاس كاندونيسيًا، و الورقة من هذه النبات يحتوي على المستحضر ميتبوليت الثاني الذي يُنفع كنبات الدواء. و أهمية هذا البحث هو لمعرفة فرقة المستحضر ميتبوليت الثاني من خلع ورقة سلام و لمعرفة عمل انتي او كسيدان خلع ورقة سلام في صنف مسيل بطريقة DPPH.

و تُخلع ورقة سلام بطريقة اولتراسونيك بصنف مسيل ايتانول، ايتيل آسيتات و ن-هيكسانا. ثم تحلل باستخدام HCl ٢ ن و معادل مع نتريوم بيكاربونات. و تعرّف مستحضر فعّال ورقة سلام يُعمل بتجربة فيتوكيمياء، اوفي-فيس و سفكتروفوتوميتر FTIR. و حاصل من كلّ الخلع يُجرّب عمل انتي او كسيدان بطريقة DPPH.

و يدلّ حاصل تجربة فيتوكيمياء ورقة سلام أنّ خلع ايتانول يحتوي على مستحضر فلافونويد، سافونين وتانين. و خلع ايتيل آسيتات يحتوي على مستحضر فلافونويد، تانين و الكالويد. و خلع ن-هيكسانا يحتوي على مستحضر الكالويد و تريترفينويد. و يستعمل تعرّف سفكتروفوتوميتر اوفي-فيس يُنال الحاصل أنّ خلع ايتانول، ايتيل آسيتات و ن-هيكسانا يوجد تحوّل الكترون $n \rightarrow \pi^*$ الذي يدلّ وجود مستحضر فلافونويد. و يستعمل تعرّف FTIR خلع ايتانول، ايتيل آسيتات و ن-

هيكسانا قبل هيدروليسيس يدلّ وجود نفس مجرّة *O-H stretch*، *C-H* اليفاتيك و *C=C stretch*. و خلع ايتانول بعد هيدروليسيس يدلّ وجود مجرّة *O-H stretch* و *C-H* اليفاتيك. و خلع ايتيل آسيتات بعد هيدروليسيس يوجد *O-H stretch*، *C-H* اليفاتيك و *C=C stretch*. و خلع ن-هيكسانا بعد هيدروليسيس يوجد نفس مجرّة *O-H stretch* و *C-H*. و لنتيجة عمل انتي اوكسيدان (EC_{50}) خلع ورقة سلام يُنال كلّ ٥٧,٢٤ جزء في المليون لخلع ايتانول، ٨٧,٧١ جزء في المليون لخلع ايتيل آسيتات و ٢٦,١١ جزء في المليون لخلع ن-هيكسانا.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman”.

Firman Allah Swt. dalam surat as Syu'ara ayat 7 – 8 terdapat زوج كريم yang diartikan segala sesuatu yang baik ditunjukkan pada objek yakni tumbuh-tumbuhan. Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional yang dapat digunakan sebagai obat untuk penyembuhan berbagai macam penyakit, dan ini merupakan anugerah dari Allah Swt. yang harus dipelajari dan dimanfaatkan sesuai perintah yang tertulis dalam Firmannya. Hal ini menunjukkan salah satu ayat atau tanda dari kekuasaan Allah Swt. sebagaimana yang dimaksud dalam ayat tersebut. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*).

Daun salam memiliki banyak manfaat dibidang kesehatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan daun salam mengandung senyawa steroid, fenolik, saponin, flavonoid, dan alkaloid (Liliwirianis, 2011). Senyawa utama yang terkandung di dalam daun salam adalah flavonoid. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki khasiat sebagai antioksidan, sebagai sistem pertahanan

tubuh (Harismah dan Chusniatun, 2016). Tanaman daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan alternatif. Pemilihan tanaman daun salam berkhasiat sebagai obat didasarkan pada pengalaman masyarakat secara turun temurun, keberadaan tanaman salam yang sudah umum dalam masyarakat, dan mudah didapatkan yang mana keamanan dan keakuratan daun salam sebagai obat belum banyak diketahui (Harismah, 2016).

Penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa daun salam memiliki kandungan senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan berupa flavonoid yakni pada golongan polifenol. Flavonoid mampu bertindak sebagai antioksidan yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas sehingga meminimalkan efek kerusakan pada sel dalam molekul-molekul tubuh seperti DNA, protein, dan lemak karena merupakan golongan polifenol yang berperan sebagai antioksidan (Dungir, dkk., 2012; Sie, 2013). Ekstrak metanol daun salam dari hasil ekstraksi maserasi mempunyai aktivitas antioksidan sebesar $EC_{50} 20,90 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$ (Perumal et al., 2012), $EC_{50} 24.09 \mu\text{g/ml}$ (Har, 2012), $EC_{50} 21.24 \pm 1.14 \mu\text{g/ml}$ (Darusman, et al., 2013).

Selain itu, pada penelitian dilakukan skrining fitokimia ekstrak daun salam. Berdasarkan uji fitokimia diperoleh hasil bahwa ekstrak daun salam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin, tanin (Bahriul, dkk., 2014) (Perdana, dkk., 2016), alkaloid dan terpenoid (Wilapangga, 2018). Berdasarkan penelitian (Bahriul, dkk., 2014) daun salam yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam adalah dengan umur daun salam muda, sedang dan tua. Hasil dari penelitian tersebut

membuktikan bahwa ekstrak daun salam yang memiliki daya antioksidan yang sangat kuat adalah daun salam tua. Pemilihan daun tua diambil daun nomor 5 kebawah (Fadli, 2019).

Senyawa metabolit sekunder pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) dapat ditentukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Teknik ini dikenal dengan sonokimia yaitu pemanfaatan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses kimia. Keuntungan utama ekstraksi gelombang ultrasonik antara lain efisiensi lebih besar, waktu operasi lebih singkat, dan biasanya laju perpindahan masa lebih cepat jika dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan soxhlet (Garcia dan Castro, 2004). Dalam proses ekstraksi suatu sampel tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi, dan suhu yang digunakan untuk mengekstraksi (Sie, 2013).

Pelarut akan mengekstrak senyawa-senyawa yang mempunyai kepolaran yang sama atau mirip dengan kepolaran pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksana. Etanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar seperti golongan fenol (Kusumaningtyas, dkk., 2008). Sedangkan etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Menurut Harbone (1987) n-heksana merupakan pelarut non polar dan dapat melarutkan senyawa non polar pada dinding sel. Pemilihan variasi pelarut digunakan untuk menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstrak dari bahan berdasarkan kepolarannya. Ekstraksi daun salam dengan menggunakan variasi pelarut merupakan cara mengambil senyawa aktif yang ada di dalam daun salam.

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% daun salam (*Syzygium polyanthum*) memberikan nilai rendemen sebesar 12,77% (Fitri, dkk., 2020). Sedangkan hasil ekstraksi maserasi daun salam dari pelarut etil asetat memberikan nilai rendemen sebesar 3,5946% dan n-heksana diperoleh rendemen sebesar 1,326% (Azhar, 2019).

Sebagian besar senyawa metabolit sekunder akan berikatan dengan senyawa yang lain dan membentuk glikosida sehingga perlu dilakukan pemutusan ikatan. Hidrolisis menggunakan asam, berfungsi untuk memutus ikatan glikosida menjadi senyawa glikon dan aglikon. Proses hidrolisis asam dilakukan dengan bantuan katalis asam klorida (HCl) untuk mempercepat reaksi pemutusan ikatan glikosida (Wahyudi, dkk., 2011).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda atau mencegah terjadinya radikal bebas dalam oksidasi lipid (Ahmad, dkk., 2012). Sementara itu, radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun salam yaitu berdasarkan aktivitas pengikatan terhadap DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Metode ini merupakan metode yang telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas antioksidan, radikal bebas yang stabil dan menggunakan parameter EC_{50} (*Effective Concentration*) (Molyneux, 2003). Menurut Handayani, dkk, (2014) metode DPPH memiliki keuntungan dari metode ini yakni pengukuran aktivitas antioksidan yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Identifikasi ini menggunakan instrumen UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Berdasarkan latar belakang di atas penelitian ini digunakan sampel daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan metode ekstraksi ultrasonik menggunakan variasi pelarut yakni etanol, etil asetat, dan n-heksana. Hasil ekstraksi tersebut kemudian diuji daya aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Golongan senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak etanol, etil asetat, dan n-Heksana daun salam (*Syzygium polyanthum*) berdasarkan uji fitokimia dan hasil identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR ?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak daun salam dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan variasi pelarut ?

1.3 Tujuan

Berdasarkan latar belakang diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol, etil asetat, dan n-Heksana daun salam (*Syzygium polyanthum*) berdasarkan uji fitokimia dan hasil identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) dari variasi pelarut.

1.4 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka batasan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Sampel yang digunakan adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh dari Sipiring Pagelaran Malang, Jawa Timur.
2. Ekstraksi daun salam menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana.
3. Pengujian fitokimia meliputi flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan triterpenoid.
4. Identifikasi golongan senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR
5. Uji Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi daun salam sebagai antioksidan alami yang mampu mencegah oksidasi dan radikal bebas. Serta dapat memberikan informasi pada lembaga akademis tentang pelarut terbaik yang dapat digunakan dalam mengekstrak golongan senyawa antioksidan yang mempunyai aktivitas tertinggi pada ekstrak daun salam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Salam

Tanaman salam merupakan tumbuhan tingkat tinggi yang mudah tumbuh pada daerah tropis. Salam mempunyai ketinggian sekitar 20 meter (Dewi, 2012). Daun salam merupakan daun tunggal yang berbentuk lonjong sampai elips, panjang tangkai 0,5-1 cm, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, panjang daun 5-15 cm dengan lebar 3-8 cm, permukaan atas daun licin berwarna hijau tua, pertulangan menyirip, dan permukaan bawah berwarna hijau muda serta daun salam memiliki bau wangi (Dalimartha, 1999). Daun Salam memiliki nama latin *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp. Daun salam juga memiliki nama lain di setiap daerah di Indonesia. Nama lokalnya antara lain: Gowok (Sunda); Manting (Jawa); Kastolam (Kangean); Meselangan, Ubar serai (Melayu) (Satya, 2013).



Gambar 2.1 Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)
(Rizki, 2015)

Taksonomi tanaman salam adalah sebagai berikut (Putra, 2015):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub kelas : Rosidae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Syzygium
Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.

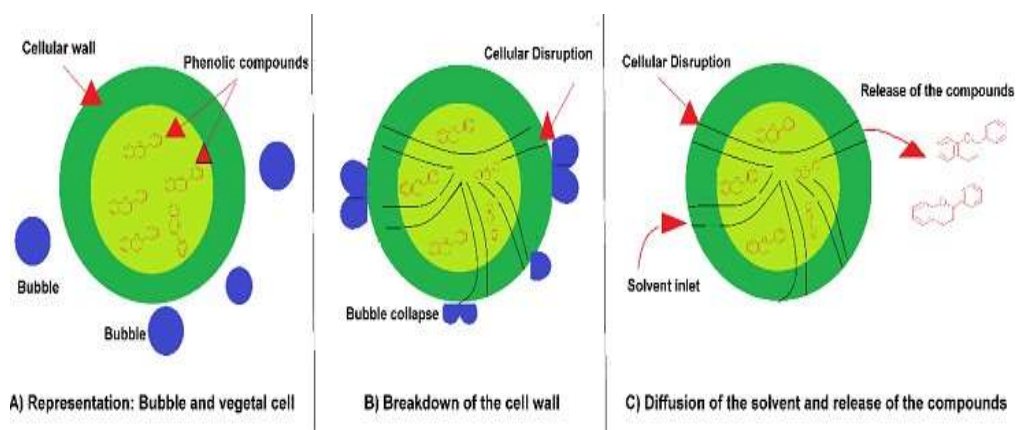
Berdasarkan beberapa penelitian, daun salam (*Syzygium polyanthum*) diketahui mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin (Bahriul, dkk, 2014) (Perdana, dkk, 201), alkaloid dan terpenoid (Wilapangga, 2018). Senyawa flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder golongan polifenol yang memiliki kemampuan berperan sebagai antioksidan dengan penangkalan senyawa radikal bebas (Arnanda, 2019). Hal ini dikarenakan flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas (Ridho, dkk, 2013).

2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan padatan maupun cairan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada

kelarutan suatu komponen terhadap komponen lainnya dalam campuran (Sholihah, dkk., 2017). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam (Harborne, 1987).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan gelombang ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik merupakan ekstraksi dengan perambatan energi melalui gelombang ultrasonik dengan menggunakan cairan sebagai media perambatan yang dapat meningkatkan intensitas perpindahan energi, sehingga proses ekstraksi lebih maksimal (Torres, dkk., 2017). Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi diatas pendengaran manusia (≥ 20 kHz). Proses dari ekstraksi ultrasonik yaitu gelombang ultrasonik mengenai sampel menyebabkan tegangan mekanik, sehingga sampel menjadi partikel dengan ruang-ruang kecil dan gelombang ini menimbulkan efek kavotasi. Gelombang kavitasi tersebut akan memecah dinding sel dan pelarut akan berdifusi dalam sel, sehingga senyawa yang ada didalam sel akan keluar dan terekstraksi seperti pada Gambar 2.2 (Torres, dkk., 2017).



Gambar 2.2 Reprerentasi grafis dari kavitasi-gelembung runtuh dan melepaskan bahan yang diekstrak. (A) Gelembung dan representasi sel vegetal; (B) Kerusakan dinding sel dan gelembung runtuh; (C) Difusi pelarut

melalui gangguan seluler dan pelepasan senyawa (Shirsath, dkk., 2012).

Metode ekstraksi dengan gelombang ultrasonik diketahui memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode maserasi. Salah satu kelebihan metode ekstraksi ultrasonik adalah kecepatan ekstraksinya, dibandingkan dengan ekstraksi secara termal atau konvensional. Metode ekstraksi dengan gelombang ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Sekarsari, dkk., 2019).

Berdasarkan penelitian Baihaqi (2018) pada ekstraksi buah pala menggunakan perbandingan penggunaan metode ekstraksi ultrasonik dan maserasi. Hasil penelitian menunjukkan hasil rendemen dari ekstraksi ultrasonik sebesar 31,33% dengan lama ekstraksi 30 menit, sedangkan hasil rendemen dari ekstraksi maserasi sebesar 20,11% dengan lama ekstraksi 420 menit. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi ultrasonik lebih efisien dibandingkan ekstraksi maserasi.

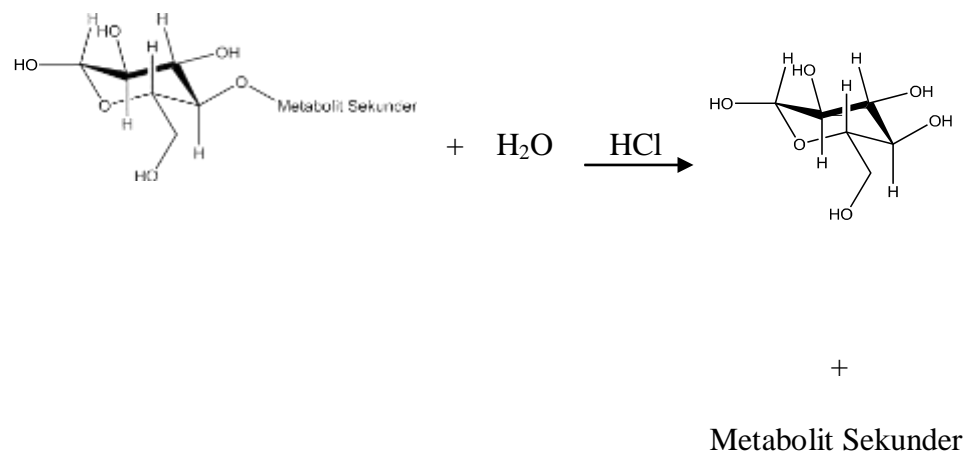
Pemilihan pelarut untuk proses ekstraksi perlu pertimbangan karakteristik keseluruhan sistem reaksi, khususnya pada rentang polaritas substrat dan produk reaksi. Kemungkinan yang digunakan adalah interaksinya dengan pelarut (Yang, dkk., 1994). Kelarutan suatu senyawa berbeda-beda dalam pelarut yang beda. Senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya. Kepolaran pelarut tergantung pada tahapan dielektrik, makin besar tahapan dielektrik maka semakin polar pelarut tersebut. (Harborne, 1987). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun salam ini adalah pelarut polar, semi polar, dan nonpolar untuk mendapatkan kandungan kimia (metabolit sekunder) yang dimiliki

tanaman salam berdasarkan tingkat kepolaran pelarut tersebut. Pada penelitian rivai (2019) untuk melarutkan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, dan tanin menggunakan pelarut etanol karna senyawa tersebut larut dalam pelarut polar. Pada penelitian Azhar (2019) untuk melarutkan senyawa terpenoid menggunakan pelarut etil asetat.

2.3 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak Daun Salam

Hidrolisis adalah proses dekomposisi kimia dengan menggunakan pelarut untuk memecahkan ikatan kimia dari substansinya. Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida. Prinsip hidrolisis asam adalah peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifudin, dkk, 2006). Katalis yang digunakan untuk hidrolisis adalah katalis asam dan katalis enzim. Hidrolisis dengan menggunakan katalis asam digunakan asam klorida, asam nitrat, dan asam sulfat (Artati dan Fatimah, 2012).

Hasil ekstraksi ultrasonik kemudian dilakukan proses hidrolisis dengan menggunakan katalis asam yakni HCL 2 N (Setiyawan, dkk., 2015). Hal tersebut dikarenakan senyawa metabolit di alam umumnya memiliki ikatan glikosida antara metabolit sekunder (aglikon) dengan komponen gula (glikon) yang saling berikatan (Mardiyah, 2012). Adapun reaksi pemutusan O-glikosida dari senyawa metabolit sekunder dengan HCl, dapat dilihat digambar 2.3 berikut :



Gambar 2.3 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Mardiyah, 2012)

2.4 Antioksidan

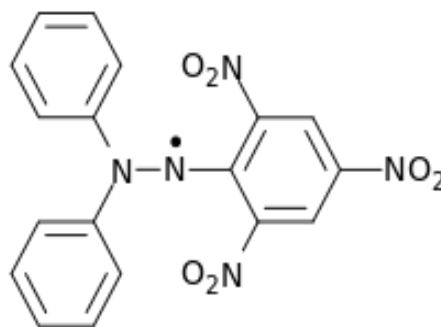
Antioksidan dapat diartikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah terjadinya proses oksidasi pada lipida (Ardiansyah, 2007). Antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron miliknya tanpa terganggu sama sekali fungsinya, karena radikal bebas dapat bertindak sebagai aseptor elektron. Senyawa antioksidan mampu menginaktivasikan berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Sie dkk., 2013).

Antioksidan sangat beragam jenisnya, berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Menurut Estinigtayas (2010), kebanyakan senyawa antioksidan dapat diperoleh dari sumber alami adalah dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan adalah daun salam. Hal ini

dikarenakan daun salam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid dan tanin yang dapat berperan sebagai antioksidan (Harismah, 2016). Flavonoid dapat bersifat sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas. Aktivitas sebagai antioksidan yang dimiliki oleh sebagian besar flavonoid karena adanya gugus hidroksil fenolik dalam struktur molekulnya juga melalui daya tangkap terhadap radikal bebas serta aktivitasnya sebagai pengkelat logam. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas (Gutteridge dan Halliwell, 1999). Tanin dapat berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam menstabilkan fraksi lipid dan keaktifannya dalam penghambatan lipoksigenase (Zeuthen dan Sorensen, 2003).

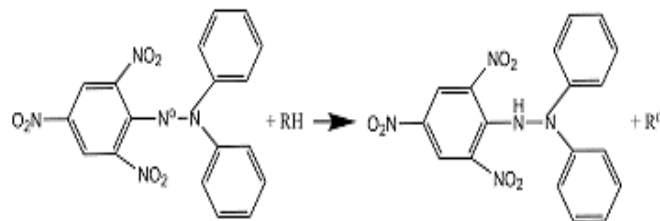
2.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan antioksidan untuk menghambat aktivitas radikal bebas (Sulistiyani dkk., 2007). Aktivitas antioksidan dibuktikan dengan perubahan warna ungu menjadi warna kuning ketika ekstrak ditambahkan larutan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) (Dungir dkk., 2012). Struktur kimia reagen DPPH antara lain sebagai berikut :



Gambar 2.4 Struktur DPPH

Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini, dkk, 2016).



Gambar 2.5 Reaksi Antara Antioksidan dengan Molekul DPPH
(Prakash, 2001)

Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun salam melepaskan H^{\cdot} yang merupakan salah satu radikal bebas. H^{\cdot} akan berikatan dengan radikal DPPH membentuk senyawa baru yaitu difenil pikrilhidrazin yang stabil. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun salam sebagai penangkap radikal bebas yang kehilangan H^{\cdot} akan menjadi radikal baru yang relatif lebih stabil dan tidak berbahaya bagi tubuh karena adanya efek resonansi inti aromatik.

Kadar aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan satuan % aktivitas. Nilai ini diperoleh dengan rumus (Molyneux) :

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \dots \dots \dots (2.1)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

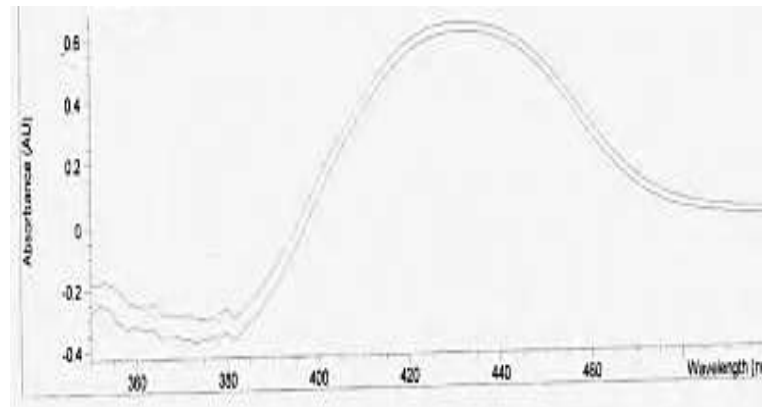
Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai EC_{50} (Efficiency Concentration). EC_{50} merupakan konsentrasi obat yang memberikan respon setengah maksimal (50%). Semakin kecil EC_{50} suatu senyawa uji, maka senyawa tersebut semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Sedangkan semakin besar nilai EC_{50} , maka menunjukkan semakin rendah aktivitas antioksidannya (Rohman dan Riyanto, 2005). Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika bernilai EC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk EC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang jika EC_{50} bernilai 101-150 ppm, dan lemah jika EC_{50} bernilai 151-200 ppm (Wulandari, dkk., 2010).

2.6 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode analisis berdasarkan interaksi antara radiasi elektromagnetik ultra violet (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan menggunakan instrumen spektrofotometer dengan suatu materi (senyawa). Analisis ini dapat menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa (Sastromidjojo, 2007).

Identifikasi dilakukan dengan perubahan panjang gelombang pada spektra flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum khas flavonoid terdiri dari dua spektrum, rentang 240 – 285 nm pada pita II dan 300 – 550 nm pada pita I (Deskawi, dkk., 2015). Saponin mempunyai serapan khas pada rentang

210 – 215 nm (Peixoto, dkk., 2011). Tanin dapat diindikasikan pada panjang gelombang 280,5 nm (Rosyada dan Ersam, 2009). Spektrum steroid atau triterpenoid pada panjang gelombang 205,60 nm (Ergina, dkk., 2014). Adapun identifikasi daun salam menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 2.6 berikut:



Gambar 2.6 Identifikasi daun salam menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Faroichi, 2014)

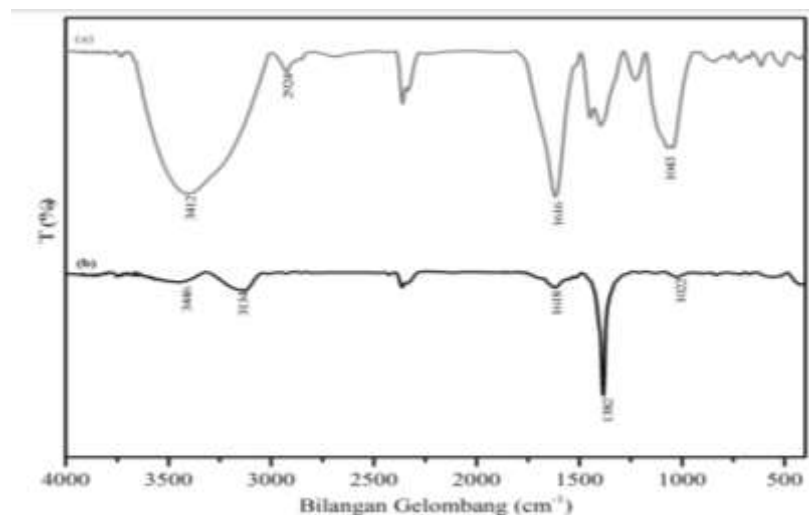
Berdasarkan hasil gambar tersebut, terlihat peak yang didapatkan dari uji spektrum UV-Vis pada sampel ekstrak daun salam yang dibagi menjadi dua. Nilai absorpsi yang didapat dari dua sampel tersebut didapatkan sebesar 0.63095 pada sampel pertama dan 0.60108 pada sampel kedua. Pada gambar diatas juga dapat dilihat bahwa peak tertinggi atau pita serapan maksimum berada pada panjang gelombang 430 nm. Jika dilihat dari tabel pita absorpsi UV dari flavonoid maka bisa diketahui bahwa pada pada panjang gelombang 430 nm merupakan range yang menunjukkan senyawa flavonoid berjenis auron. Range dari flavonoid dengan jenis auron ini adalah jika pita serapan maksimum berada antara rentang 380-430 nm (Faroichi, 2014).

Tabel 2.1 Tabel karakteristik penyerapan beberapa kromofor (Housheh, 2009)

Kromofor	Pelarut	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}	Tipe transisi
Alkena	n-heptana	177	13.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alkuna	n-heptana	178	10.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
		196	2.000	—
		225	160	—
Karbonil	n-heksana	186	1.000	$n \rightarrow \sigma^*$
		280	16	$n \rightarrow \pi^*$
	n-heksana	180	<i>Large</i>	$n \rightarrow \sigma^*$
		293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Karboksil	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	Air	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	Isooktana	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	Etil eter	300	100	—
		665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrat	Dioksana	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

2.7 Identifikasi dengan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer inframerah(*infrared/IR*) merupakan analisis senyawa organik dan anorganik yang berdasarkan pada interaksi antara gelombang elektromagnetik infra merah (IR) dengan materi. Analisis ini digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi dan menganalisis senyawa campuran organik maupun anorganik (Underwood, 1986). Setiap gugus fungsi akan memberikan informasi yang tetap, informasi inilah yang digunakan untuk menganalisis secara kualitatif pada zat tersebut (Harvey, 2000). Adapun identifikasi daun salam menggunakan FTIR dapat dilihat pada Gambar 2.7 berikut:



Gambar 2.7 Identifikasi Daun Salam Menggunakan FTIR
(Taba, et al., 2019)

Berdasarkan hasil pada gambar pita serapan dari ekstrak daun salam pada 3412 cm^{-1} adalah karakteristik dari vibrasi peregangan O-H yang berasal dari kelompok senyawa yang terkandung dalam senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, saponin dan polifenol. Ciri umum senyawa fenolik diindikasikan oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1616 cm^{-1} yaitu serapan C=O. Bilangan

gelombang 1043–1068 cm^{-1} merupakan gugus C-O. Pita serapan dari bilangan gelombang 2924 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi peregangan C-H (Taba, et al., 2019).

Tabel 2.2 Tabel frekuensi inframerah (Day dan Underwood, 1986)

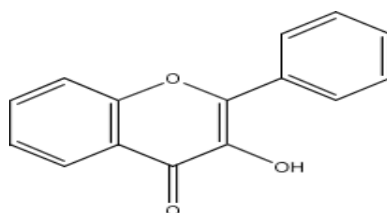
	Gugus	Frekuensi	Panjang gelombang (nm)
OH	Alkohol	3580 – 3650	2,74 – 2,79
	Berikatan H	3210 – 3550	2,82 – 3,12
	Asam	2500 – 2700	3,70 – 4,00
NH	Amina	3300 – 3700	2,70 – 3,03
CH	Alkana	2850 – 2960	3,37 – 3,50
	Alkena	3010 – 3095	3,23 – 3,32
	Aromatik	~3300	3,03
$\text{C}\equiv\text{C}$	Alkuna	2140 – 2260	4,42 – 4,76
C=C	Alkena	1620 – 1680	5,95 – 5,81
	Aromatik	~1600	~6,25
C=O	Aldehida	1720 – 1740	5,75 – 5,81
	Keton	1675 – 1725	5,79 – 5,97
	Asam	1700 – 1725	5,79 – 87,0
$\text{C}\equiv\text{N}$	Nitril	2000 – 2300	4,35 – 5,00

2.8 Uji Fitokimia Daun Salam

2.81.1 Flavonoid

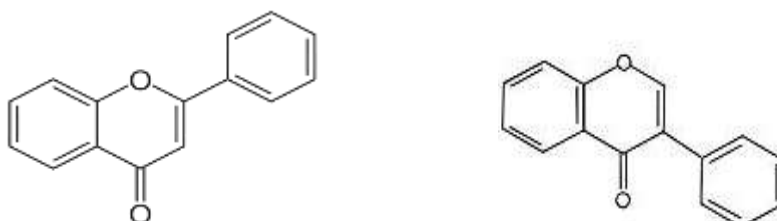
Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat dkk., 2009). Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksilnya. Salah satu kelompok senyawa flavonoid adalah quercetin yang memiliki lima gugus hidroksil yang mampu meredam radikal bebas DPPH (Rahayu, dkk., 2015).

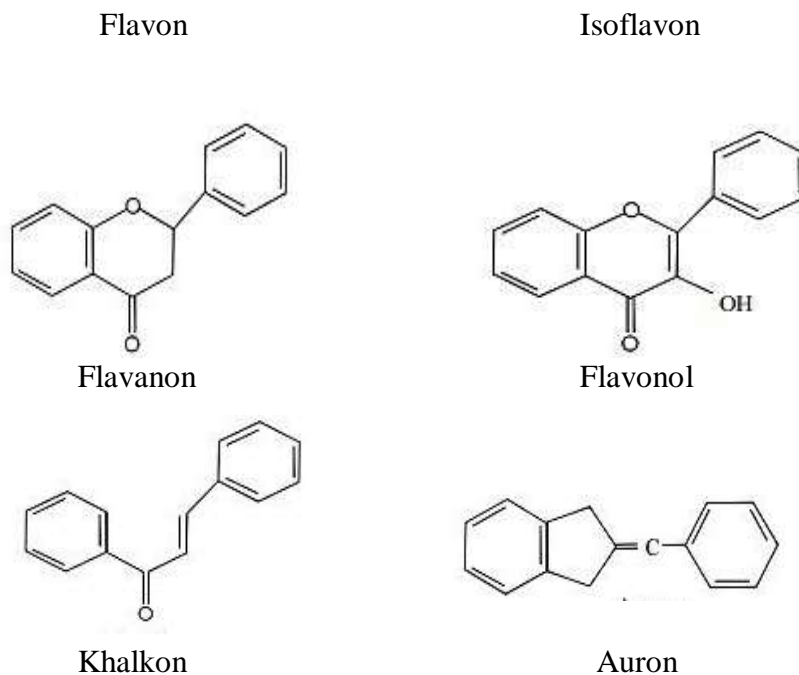
Menurut penelitian yang dilakukan Perdana (2016) melakukan uji fitokimia pada ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan ekstrak menggunakan pelarut etanol. Hasil ekstrak yang diperoleh positif terkandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah. Struktur senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.8 berikut:



Gambar 2.8 Struktur Flavonoid (Robinson, 1991)

Flavonoid dapat digolongkan menjadi beberapa bagian dengan senyawa seperti flavon, isoflavon, flavanon, flavonol, khalkon, dan auron. Adapaun struktur dasar dari flavonoid dapat dilihat pada gambar 2.9.





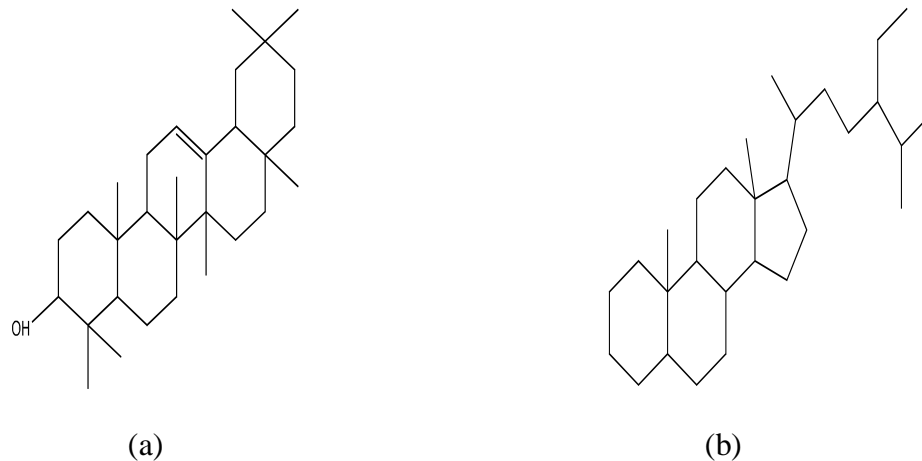
Gambar 2.9 Struktur dan Senyawa Golongan Flavonoid (Markham, 1988)

Uji fitokimia flavonoid dapat dilakukakn dengan metode Wilstater yaitu dengan penambahan HCl pekat dan serbuk Mg. adanya flavonoid ditandai dengan warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol atau flavanon, warna hijau sampai biru diberikan oleh aglikon atau glikosida (Marliana, 2005).

2.8.2 Saponin

Saponin pada umumnya berada dalam bentuk glikosida sehingga umumnya bersifat polar dan merupakan senyawa aktif permukaan yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Penelitian yang dilakukan Perdana (2016) pada ekstrak etanol daun salam menunjukkan hasil positif saponin. Uji fitokimia saponin dapat dilakukakn dengan metode Forth yaitu dengan cara penambahn akuades dalam ekstrak lalu kemudian dikocok selama 30 detik. Apabila terbentuk

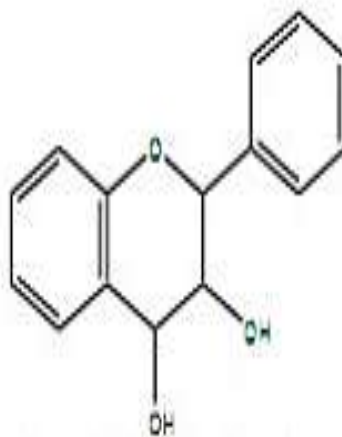
busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin. Struktur senyawa saponin dapat dilihat pada Gambar 2.10 berikut:



Gambar 2.10 (a) Struktur saponin tipe triterpenoid dan (b) Struktur saponin tipe steroid (Robinson, 1995)

2.8.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap tidak larut dalam air. Tanin termasuk golongan fenolik yang mengandung kerangka cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil (-OH) (Mustikasari dan Ariyanti, 2008). Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2.11 berikut:



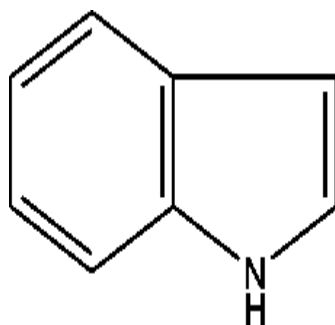
Gambar 2.11 Struktur Senyawa Tanin (Robinson, 1995)

Penelitian yang dilakukan oleh Bahriul, dkk (2014) pada uji fitokimia terhadap ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan pelarut etanol. Hasil penelitian tersebut terdapat senyawa tanin pada daun salam yang ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hitam kehijauan setelah penambahan FeCl_3 . Uji tanin dilakukan dengan cara melarutkan sampel kedalam metanol sampai sampel terndam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruani atau hijau (Sangi et al., 2008).

2.8.4 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan seperti pada daun (Lenny, 2006). Ciri khas senyawa alkaloid yaitu mengandung paling sedikit 1 atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Kristanti, dkk., 2008). Menurut penelitian Perdana (2016) uji fitokimia ekstrak etanol pada daun salam positif mengandung alkaloid, yang

ditandai dengan adanya endapan merah pada pereaksi Dragendroff dan endapan putih pada pereaksi Meyer. Senyawa alkaloid bereaksi dengan pereaksi Dragendroff ditandai dengan terbentuknya endapan merah kecoklatan (Lutfillah, 2008).

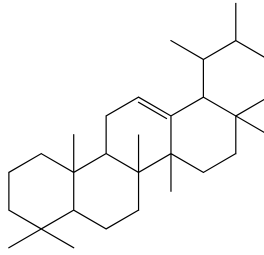


Gambar 2.12 Struktur dasar alkaloid (Robinson, 1995)

Uji fitokimia senyawa alkaloid direaksikan dengan pereaksi Dragendroff dan Meyer. Hasil positif alkaloid membentuk endapan putih atau kekuningan dengan reagen Mayer (Saxena, dkk., 2013). Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Peraksi Dragendroff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan peraksi mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2007).

2.8.5 Triterpenoid

Triterpenoid adalah suatu senyawa yang tersusun atas isoprene $\text{CH}_2\text{-C}(\text{CH}_3)\text{CH-CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5 ini. Triterpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskuioterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap, dan terterpen dan sterol yang tidak menguap. Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan (Harborne, 1987).



Gambar 2.13 Struktur dasar triterpenoid (Robinson, 1995)

Uji triterpenoid dilakukan dengan cara menambahkan pereaksi Liebermann Burchard sebanyak 2-3 tetes kedalam ekstrak. Apabila larutan terbentuk warna ungu maka ekstrak tersebut positif adanya terpenoid (Wilapangga, 2018).

2.9 Menurut Perspektif Pandangan Islam

Obat herbal merupakan obat yang menggunakan bahan baku berasal dari alam, dapat berupa hewan dan tumbuhan. Salah satu jenis obat alam adalah ramuan, ramuan adalah obat tradisional yang diracik menggunakan bahan tanaman asli seperti daun yang memiliki khasiat untuk merawat kesehatan (Mursito, 1999).

Tumbuhan merupakan sesuatu yang tumbuh, segala yang hidup, berbatang, berdaun dan berakar. Tumbuhan juga dapat melangsungkan proses fotosintesis dengan bantuan dari sinar matahari. Hampir semua bagian dari tumbuhan dapat kita manfaatkan. Salah satu manfaat tumbuhan adalah sebagai obat herbal. Bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah bagian daun, batang, akar, rimpang, bunga, buah dan bijinya. Sebagaimana disebutkan dalam surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضِ رَوَاسِي أَنْ تُمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا

مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya : *“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”*.

Berdasarkan ayat tersebut, lafadz *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Allah Swt. menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik untuk makhluk-Nya. Hal ini juga sesuai dengan firman Allah Swt. yang menyebutkan bahwa Allah Swt. menurunkan segala sesuatu di bumi, termasuk tumbuh-tumbuhan, tidak lain adalah agar dapat memberikan manfaat bagi manusia. Salah satu tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat dari bahan alam yaitu daun salam. Firman Allah Swt. surat An-Nahl ayat 13:

وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya : *“Dan (Dia juga mengendalikan) apa yang Dia ciptakan untukmu di bumi ini dengan berbagai jenis dan macam warnanya. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran”*.

Kata *“Mukhtalifan Alwaanuhu”* menunjukkan bahwa Allah Swt. menciptakan segala macam makhluk dan tumbuhan yang beranekaragam di seluruh penjuru bumi (al Mahali dan as Suyuthi, 2011), misalnya daun salam. Allah Swt. menciptakan tumbuhan daun salam agar manusia berfikir dan mengambil pelajaran pada tanda-tanda kekuasaan-Nya, serta untuk kemaslahatan umat manusia. Salah satunya sebagai sumber obat bagi manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia.

BAB III

METODOLOGI

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dengan judul “Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Hasil Sonikasi dengan Variasi Pelarut”. Dilaksanakan pada bulan Juni - Juli 2021 dan bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan diantaranya oven, blender, kaca arloji, timbangan analitik, gelas ukur 100 mL, Erlenmeyer 500 mL, pengaduk kaca, penyaring Buchner, seperangkat alat *Ultrasonik bath*, *rotary evaporator*, *beaker glass* 100 mL, *aluminium foil*, kertas saring, desikator, botol semprot, lemari asap, *shaker*, pompa vakum, corong buchner, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, penjepit, corong kaca, labu ukur, pipet mikro, spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*), air, etanol, etil asetat, n-heksan, metanol, serbuk Mg, HCl pekat, HCl 1N, HCl 2N, FeCl₃ 1%, readen Dragendroff, reagen Mayer, pereaksi Liebermann Burchard, DPPH, dan KBr.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Pemilihan sampel daun salam yakni daun tua diambil daun nomor 5 kebawah. Daun salam dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan menggunakan oven. Kemudian sampel dihaluskan dan disaring dengan ayakan 60 mesh. Serbuk yang diperoleh kemudian diekstrak menggunakan metode ultrasonik. Pelarut yang digunakan saat ekstraksi yaitu menggunakan pelarut organik etanol, etil asetat, dan n-heksana, setelah itu dilakukan hidrolisis.

Hasil dari hidrolisis kemudian dilanjutkan uji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH dan uji fitokimia. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan mengukur panjang gelombang maksimumnya dan aktivitas antioksidan pada sampel, diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Selanjutnya ekstrak kasar daun salam dan hasil hidrolisis juga dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm dan FTIR pada bilangan gelombang 4000-450 cm^{-1} . Pengujian fitokimia terdiri dari flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan triterpenoid.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel daun salam
2. Ekstraksi senyawa aktif dengan ultrasonik
3. Hidrolisis
4. Uji fitokimia

5. Identifikasi spektrofotometer UV-Vis
6. Identifikasi dengan spektrofotometer FTIR
7. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH
8. Analisis data

3.4.1 Preparasi Sampel

Daun salam yang dipilih yakni daun tua diambil daun nomor 5 kebawah. Daun salam yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran yang melekat, setelah itu daun salam ditimbang sebanyak 1 kg kemudian dicuci dengan air mengalir. Daun salam kemudian dirajang kasar dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu $\pm 40^{\circ}$ C. Setelah itu dihaluskan menjadi serbuk dan diayak dengan ukuran 60 mesh, hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian (Fadli, 2019).

3.4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik

Ekstraksi daun salam dilakukan dengan cara ekstraksi ultrasonik dengan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana. Sebanyak 30 gram serbuk daun salam dimasukkan kedalam Erlenmeyer, ditambah pelarut yang berbeda pada setiap Erlenmeyer yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksana sebanyak 300 mL dengan perbandingan bahan dan pelarut (1:10). Kemudian dimasukkan ke dalam ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 40 kHz selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian hasil ekstraksi disaring menggunakan corong *Buchner*. Filtrat yang didapat adalah ekstrak kasar daun salam

Selanjutnya filtrat diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sampai dihasilkan ekstrak kental etanol, etil asetat, dan n-heksana daun salam. Ekstrak pekat ditimbang kemudian dihitung rendemennya dengan persamaan (3.1) (Fatmawati, 2018) :

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

3.4.3 Hidrolisis

Pada saat dihidrolisis yang pertama dilakukan yakni diambil ekstrak pekat etanol daun salam sebanyak 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass. Kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 10 mL HCl 2 N. Hidrolisis dilakukan selama 2 jam menggunakan magnetik stirer hot plate pada suhu ruang. Dan dinetralkan dengan NaHCO₃ hingga pH netral. Dilakukan hal yang sama pada ekstrak etil asetat dan n-heksana daun salam (Khasanah, 2018).

3.4.4 Uji Fitokimia

3.4.4.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 mL hasil hidrolisis dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambah 0,1 gram serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 5 tetes. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga (Astuti, 2012).

3.4.4.2 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 mL hasil hidrolisis dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air (1:1) dan dikocok selama 1 menit, apabila

menimbulkan busa ditambahkan 2-3 tetes HCl 1 N. Apabila busa terbentuk tetap stabil kurang lebih 7 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Astuti, 2012).

3.4.4.3 Uji Tanin

Sebanyak 0,5 mL hasil hidrolisis dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Apabila larutan terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman maka ekstrak tersebut menunjukkan reaksi positif adanya tanin (Agustina, 2016).

3.4.4.4 Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 mL hasil hidrolisis dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 mL HCl 2 N dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, sedangkan tabung 2 ditambahkan reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuningan (reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid (Astuti, 2012).

3.4.4.5 Uji Triterpenoid

Sebanyak 0,5 mL hasil hidrolisis dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambah dengan pereaksi Liebermann Burchard sebanyak 2-3 tetes. Apabila larutan terbentuk warna ungu maka ekstrak tersebut positif adanya terpenoid (Wilapangga, 2018).

3.4.5 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak kasar dan ekstrak hasil hidrolisis dilarutkan berdasarkan pelarutnya sebanyak 5 mL. Selanjutnya dimasukkan kedalam kuvet dan diukur panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada kisaran panjang gelombang 200-800 nm.

3.4.6 Identifikasi dengan FTIR

Ekstrak kasar dan ekstrak setelah hidrolisis hasil identifikasi UV-Vis diuapkan kemudian ditambahkan KBr. Selanjutnya campuran dihomogenkan pada mortar agat dan dibuat pelet. Pelet yang telah dibuat kemudian diidentifikasi gugus senyawanya dengan spektrofotometer FTIR pada bilangan gelombang 4000-450 cm^{-1} .

3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH

3.4.7.1 Penentuan panjang Gelombang Maksimum

Pelarut sampel diambil sebanyak 3 mL. Larutan ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1 mL, lalu diinkubasi pada suhu 37° C . Larutan dimasukkan dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu dimasukkan dalam kuvet, dicari λ_{maks} larutan pada rentang panjang gelombang 500-530 nm dengan interval 5 nm dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rastuti dan Purwati, 2012).

3.4.7.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

a) Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pelarut ekstrak

sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tisu. Larutan diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Larutan dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

- b) Absorbansi sampel: Ekstrak dilarutkan dalam pelarut dengan variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi, kemudian setiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 ml ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL. Larutan diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Larutan dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

Data absorbansi yang diperoleh dari setiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dari Persamaan (Molyneux, 2003).

Persamaan aktivitas antioksidan:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\% \dots (3.2)$$

3.4.8 Analisis Data

Data aktivitas antioksidan yang diperoleh dari analisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pada tahap pertama diperoleh hasil EC₅₀ hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing variasi pelarut dengan konsentrasi yang diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji aktivitas antioksidan berupa data angka yang dinyatakan dalam EC₅₀ yang dapat diolah menggunakan software “*GraphPad prism software*”.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada penelitian ini diperoleh dari Sipirin, Pagelaran, Kabupaten Malang. Tahapan preparasi sampel daun salam meliputi pencucian, pengeringan, dan penyerbukan. Pencucian sampel bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi. Daun salam kering kemudian dihaluskan di Materia Medika Batu, proses penghalusan dilakukan agar luas permukaan semakin besar sehingga mempermudah kontak antara sampel dengan pelarut pada saat ekstraksi. Hasil pengeringan dari 1 kilogram sampel basah menghasilkan 500 gram serbuk daun salam berwarna hijau tua dan masih berbau khas daun salam. Serbuk daun salam (*Syzygium Polyanthum*) ditampilkan pada Gambar 4.1.



Gambat 4.1 Serbuk daun salam

4.2 Ekstraksi Gelombang Ultrasonik Daun Salam dengan Variasi Pelarut

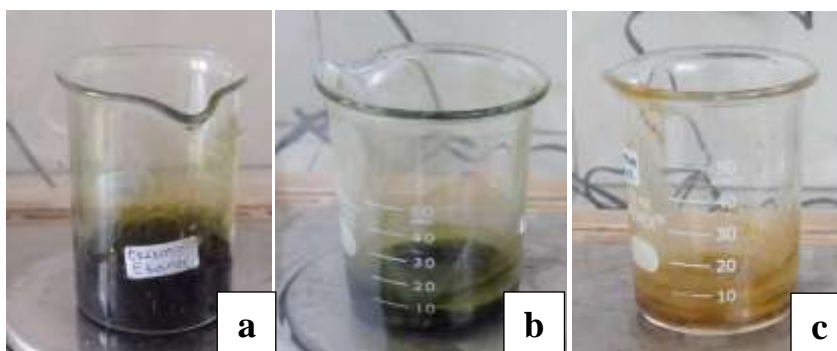
Ekstraksi sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan metode ultrasonikasi dengan tiga variasi pelarut yaitu etanol, etil asetat dan n-heksana. Prinsip dari metode ultrasonikasi adalah pengekstrakan melalui gelombang ultrasonik pada senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut sesuai dengan tingkat kepolarannya. Metode ini dipilih sebagai metode ekstraksi daun salam karena waktu yang relatif singkat dan mengurangi penggunaan pelarut. Pada proses ultrasonikasi, dinding sel dari sampel daun salam dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah. Proses ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan perbandingan bahan : pelarut (1:10) dengan frekuensi 40 kHz pada suhu ruang selama 30 menit. Filtrat yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut. Hasil pengamatan terhadap warna filtrat, warna ekstrak, pengukuran berat ekstrak kasar dan rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak daun salam dari berbagai pelarut

Jenis Pelarut	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
Etanol	Hijau Tua Pekat	0,979	3,265
Etil Asetat	Hijau Tua Pekat	0,394	1,314
n-heksana	Kuning Kecoklatan	0,222	0,740

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa hasil rendemen tertinggi ekstrak daun salam adalah ekstrak etanol dengan nilai rendemen sebesar 3,265%. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalam sampel (Nurhayati dkk, 2009). Menurut Hasanah, (2015) ekstrak etanol daun salam mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin yang bersifat polar dan triterpenoid yang bersifat non

polar. Hal ini disebabkan karena etanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar pada bahan (Snyder, 1997). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Fitri dkk., (2020) dan Azhar dkk., (2019) yaitu nilai rendemen tertinggi yaitu etanol kemudian etil asetat dan terendah yaitu n-heksana. Hasil ekstrak kasar dari berbagai pelarut ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Ekstrak kasar daun salam dari berbagai pelarut
(a) etanol (b) etil asetat (c) n-heksana

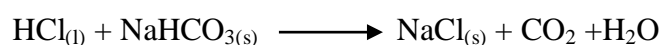
Berdasarkan Gambar 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak daun salam dari berbagai pelarut memiliki hasil dan warna yang berbeda-beda. Pada pelarut polar dihasilkan warna yang sangat pekat daripada pelarut etil asetat dan n-heksana. Bau dari ekstrak masing-masing pelarut sudah berubah menjadi bau pelarut tersebut.

4.3 Hidrolisis

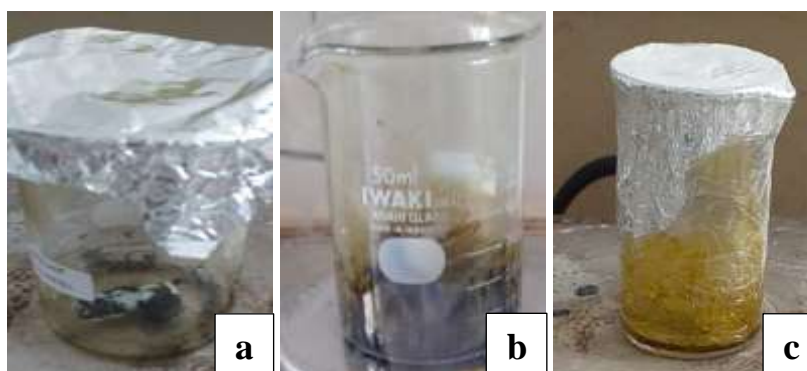
Senyawa aktif yang terdapat di alam sebagian besar mengandung komponen gula (glikosida). Hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida agar didapatkan senyawa aktif yang tidak mengandung komponen gula lagi. Ekstrak hasil ultrasonikasi dihidrolisis menggunakan HCl 2 N. Pemilihan HCl yang

tergolong asam kuat ini lebih mudah melepaskan proton H^+ secara sempurna dalam air, sedangkan asam lemah relatif lebih sukar sehingga asam lemah memiliki kecenderungan terionisasi sebagian dalam pelepasan ion H^+ . Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida ditunjukkan pada gambar 2.3.

Reaksi hidrolisis bersifat *reversible* atau bolak balik, oleh sebab itu dilakukan penetralan agar tidak terjadi reaksi pembentukan ikatan glikosida antara glikon dan aglikon kembali. Penetralan ini dilakukan dengan larutan basa lemah yaitu natrium bikarbonat untuk menghentikan reaksi hidrolisis yang ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung yaitu gas CO_2 yang mengidentifikasi bahwa HCl dan $NaHCO_3$ sudah bereaksi. Reaksi penetralan yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 4.3. Serta hasil hidrolisis ekstrak daun salam dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Reaksi antara HCl dan $NaHCO_3$ (Mardiyah, 2012)



Gambar 4.4 Hidrolis ekstrak kasar daun salam dari berbagai pelarut
(a) etanol (b) etil asetat (c) n-heksana

Berdasarkan gambar 4.4 menunjukkan bahwa hasil dari hidrolisis ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana tidak terdapat endapan dan lebih encer dibandingkan dengan ekstrak sebelum hidrolisis. Bau dari masing-masing ekstrak

tidak terjadi perubahan dari sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis. Warna dari masing-masing ekstrak tidak terjadi perubahan sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis. Bentuk dari ekstrak etanol setelah hidrolisis terjadi penggumpalan, untuk ekstrak etil asetat dan n-heksana tidak ada perubahan bentuk sebelum dan setelah hidrolisis. Penggumpalan etanol setelah hidrolisis disebabkan adanya penambahan jumlah larutan HCl dan NaHCO₃ yang mengakibatkan perubahan bentuk dan warna pada setiap ekstrak.

4.4 Uji Fitokimia

Eksrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun salam diidentifikasi senyawa metabolit sekundernya secara kualitatif menggunakan uji fitokimia. Uji fitokimia ini dilakukakn untuk memperkuat dugaan dari identifikasi spektrofotmeter UV-Vis dan FTIR. Hasil uji senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun salam dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji senyawa metabolit sekunder dari berbagai pelarut

No.	Golongan Senyawa aktif	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
1.	Flavonoid	+	+	+
2.	Saponin	+	-	-
3.	Tanin	+	+	-
4.	Alkaloid			
	a Meyer	-	-	-
	b Dragendorff	-	+	+
5.	Triterpenoid	-	-	+

Keterangan : + = Positif mengandung senyawa

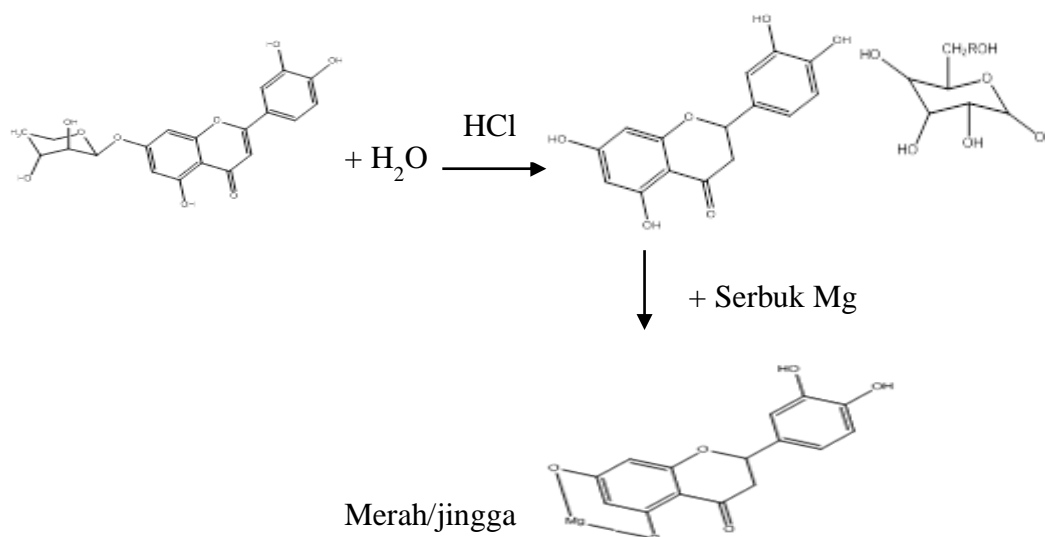
- = Negatif mengandung senyawa

Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.2 diketahui bahwa ekstrak etanol diduga mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Ekstrak etil asetat mengandung senyawa flavonoid, tanin dan alkaloid. Sedangkan pada ekstrak n-

heksana mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tripterpenoid. Senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat dideskripsikan sebagai berikut:

4.4.1 Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak daun salam dalam penelitian ini dilarutkan dengan metanol 50% panas dan ditambahkan dengan logam Mg serta HCl pekat. Fungsi Penambahan metanol 50% panas adalah untuk melarutkan sampel, sedangkan HCl pekat untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil (Baud, 2014). Reduksi dengan Mg dan HCl pekat menghasilkan senyawa kompleks garam flavilium yang berwarna merah, kuning, atau jingga pada flavonol, flavonon, flavononol, dan zanton (Marliana dkk, 2006). Dugaan reaksi flavonoid dengan logam Mg dan Cl ditampilkan pada Gambar 4.5.



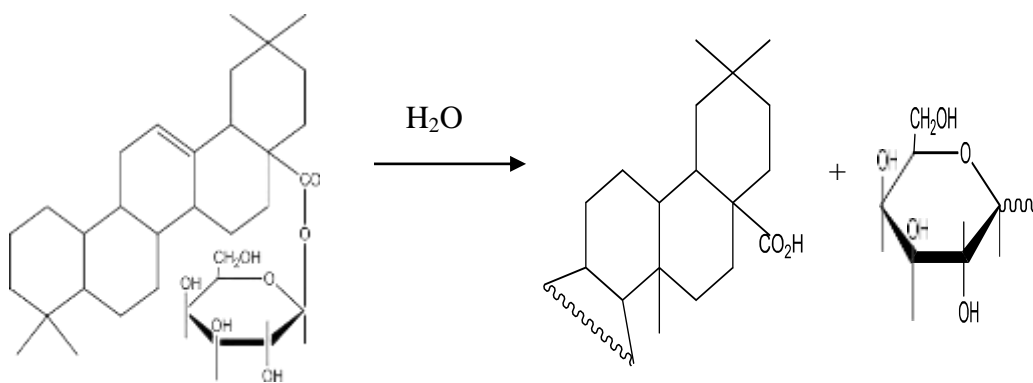
Gambar 4.5 Reaksi dugaan flavonoid dengan logam Mg dan Cl (Kristianti, dkk. 2008)

Hasil penelitian ini diketahui bahwa ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana daun salam positif mengandung flavonoid. Suatu senyawa akan larut

pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama. Senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda-beda tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid, sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut (Harborne, 1996). Senyawa metabolit sekunder yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar (Markham, 1988)

4.4.2 Saponin

Uji kualitatif saponin pada ekstrak daun salam dilakukan dengan uji busa, yaitu dengan penambahan air dan dilakukan pengocokan. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan timbulnya busa yang bertahan selama 10 menit. Pada penelitian ini ekstrak etanol daun salam diduga positif mengandung senyawa saponin, sedangkan ekstrak etil asetat dan n-heksana negatif senyawa saponin. Hal ini terjadi karena senyawa saponin umumnya berada dalam bentuk glikosida sehingga cenderung bersifat polar. Saponin merupakan suatu glikosida dengan gugus hidroksil pada molekulnya dan mengandung gugus hidrofilik dan hidrofobik. Adanya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, dkk., 2005). Dugaan reaksi yang terjadi pada uji saponin dapat dilihat pada Gambar 4.6 berikut:

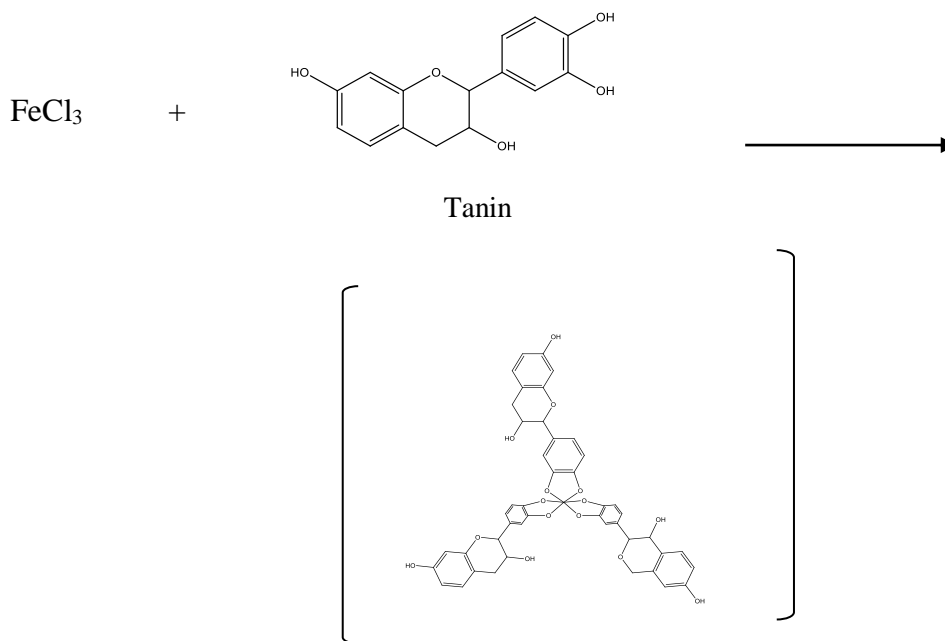


Gambar 4.6 Dugaan reaksi uji saponin (Rusdi, 1990)

4.4.3 Tanin

Pengujian golongan senyawa tanin pada ekstrak daun salam dilakukan dengan penambahan larutan FeCl_3 . Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun salam positif mengandung senyawa tanin, sedangkan ekstrak n-heksana negatif senyawa tanin. Hal ini dikarenakan golongan senyawa tanin merupakan senyawa fenolik yang cenderung larut dalam pelarut polar seperti etanol dan etil asetat (Harbone, 1987).

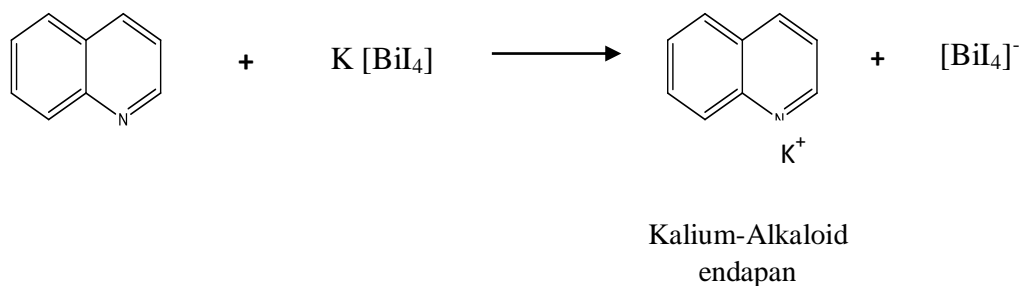
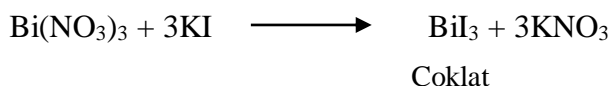
Penambahan FeCl_3 digunakan untuk menentukan adanya kandungan gugus fenol yang terdapat pada sampel, adanya gugus fenol ini ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan reagen FeCl_3 . Hal ini disebabkan tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Ergina, dkk., 2014). Reaksi dugaan yang terjadi antara tanin dan FeCl_3 ditampilkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Reaksi dugaan Hijau Kebiruan FeCl_3 (Inayati, 2008)

4.4.4 Alkaloid

Hasil uji metabolit sekunder ekstrak etil asetat dan n-heksan menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid, dan negatif pada ekstrak etanol. Hal ini terjadi karena senyawa alkaloid yang umumnya bersifat semi polar dan hanya terikat oleh pelarut yang bersifat non polar (Dewi dkk., 2013). Uji alkaloid pada ekstrak daun salam dilakukan dengan penambahan HCl terlebih dahulu sebelum ditambahkan reagen atau pereaksi, karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harbone, 1996). Penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan kelarutan alkaloid, karena senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida kemudian membentuk garam yang mudah larut dalam air (Harbone, 1987). Hasil positif alkaloid dengan reagen Dragendorff ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga. Reaksi dugaan alkaloid dengan reagen dragendroff ditunjukkan dalam Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff
(Ergina, dkk., 2014)

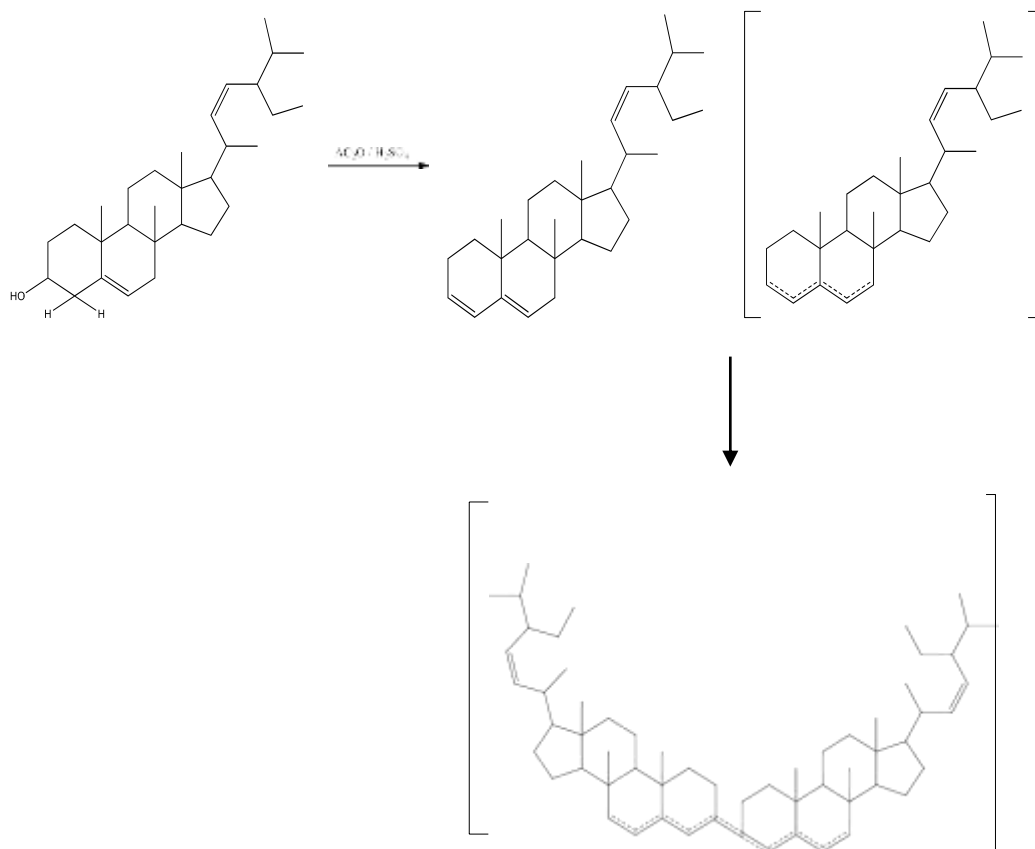
Reagen Dragendorff terbuat dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan bismut (III) iodida yang kemudian terlarut dalam iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Marliana, dkk., 2005). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas (PEB) sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan koordinat dengan logam. Pada reaksi antara alkaloid dengan reagen Dragendorff ini terjadi penggantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai PEB pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati dan Erwin, 2015).

4.4.5 Triterpenoid

Uji golongan triterpenoid ekstrak daun salam dalam penelitian ini dilakukan dengan penambahan kloroform, asam anhidrat (reagen Libermann-

Burchard) ke dalam sampel. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asetat anhidrat. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya akan terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya menyebabkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofil yang diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen dilepas, yang mengakibatkan senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang menyebabkan warna pada triterpenoid.

Hasil uji yang telah dilakukan ekstrak n-heksan daun salam positif mengandung senyawa triterpenoid, sedangkan ekstrak etanol dan etil asetat negatif. Triterpenoid cenderung bersifat non polar, oleh karena itu golongan senyawa ini lebih banyak larut dalam pelarut non polar seperti n-heksana. Positif senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut saat ditambah H_2SO_4 . Hal ini dikarenakan kemampuan senyawa triterpenoid dalam membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asetat anhidrat. Perubahan warna ini terjadi karena adanya reaksi oksidasi pada golongan senyawa triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi yang menghasilkan gugus kromofor. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi dugaan uji triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 4.9 berikut:

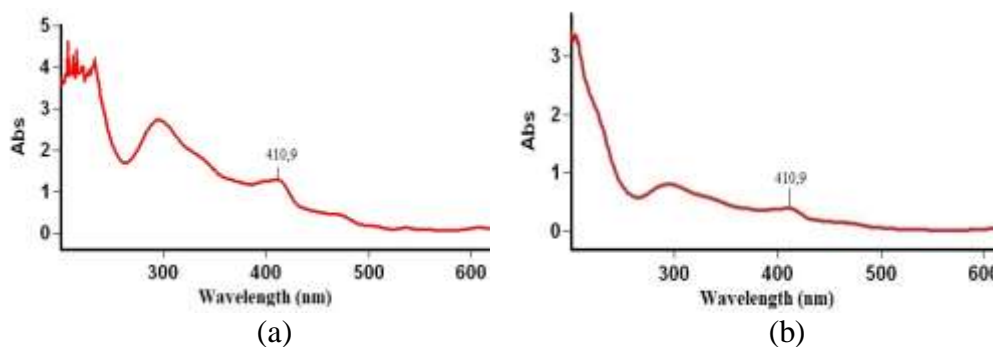


Gambar 4.9 Reaksi dugaan uji triterpenoid (Siadi, 2012)

4.5 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

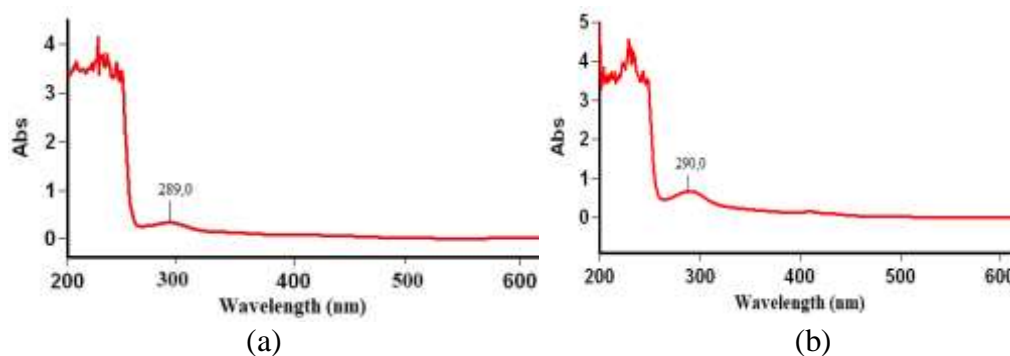
Sampel hasil ekstraksi dan hidrolisis diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 – 800 nm. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk memperkuat dugaan dari uji fitokimia. Berikut adalah hasil identifikasi pada ekstrak etanol, etil asetat, dan n-Heksana daun salam.

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan serapan panjang gelombang pada ekstrak etanol ditampilkan pada Gambar 4.10, ekstrak etil asetat ditampilkan pada Gambar 4.11, dan ekstrak n-heksana ditampilkan pada Gambar 4.12.



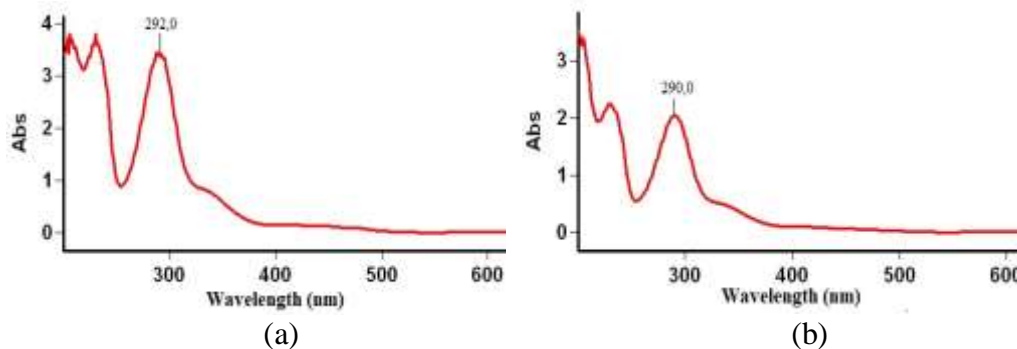
Gambar 4.10 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis (a) ekstrak etanol sebelum hidrolisis dan (b) ekstrak etanol setelah hidrolisis daun salam

Berdasarkan hasil UV-Vis pada Gambar 4.10 menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol sebelum dan setelah hidrolisis terdapat serapan maksimum 410,9 nm pada pita I dengan absorbansi 1.294 dan 0,061 yang menunjukkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang mengandung senyawa auron golongan flavonoid (Markham, 1988).



Gambar 4.11 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis (a) ekstrak etil asetat sebelum hidrolisis dan (b) ekstrak etil asetat setelah hidrolisis daun salam

Hasil UV-Vis pada Gambar 4.11 menunjukkan ekstrak etil asetat sebelum dan setelah hidrolisis didapatkan serapan maksimum 289,0 nm dan 290 nm pada pita II dengan absorbansi 0,340 dan 0.682 menunjukkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang mengandung senyawa flavanon golongan flavonoid (Markham, 1988).



Gambar 4.12 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis (a) ekstrak n-heksana sebelum hidrolisis dan (b) ekstrak n-heksana setelah hidrolisis daun salam

Berdasarkan hasil UV-Vis pada Gambar 4.12 menunjukkan ekstrak n-heksana sebelum dan setelah hidrolisis terdapat serapan maksimum 292 nm dan 290 nm pada pita II dengan absorbansi 3,415 dan 2,047 menunjukkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$ menunjukkan ciri khas senyawa flavanon golongan flavonoid (Tunnisa, 2018).

Berdasarkan hasil spektra UV-Vis yang didapat, ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis memiliki perbedaan pada nilai absorbansi, dimana ekstrak setelah hidrolisis didapat nilai absorbansi lebih tinggi dibandingkan dengan sebelum hidrolisis. Hal ini terjadi karena semakin tinggi kadar flavonoid maka molekul-molekul yang terdapat pada ekstrak daun salam setelah hidrolisis semakin banyak, sehingga molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu juga semakin banyak. Dengan demikian mengakibatkan nilai absorbansinya semakin tinggi (Neldawati, dkk., 2013).

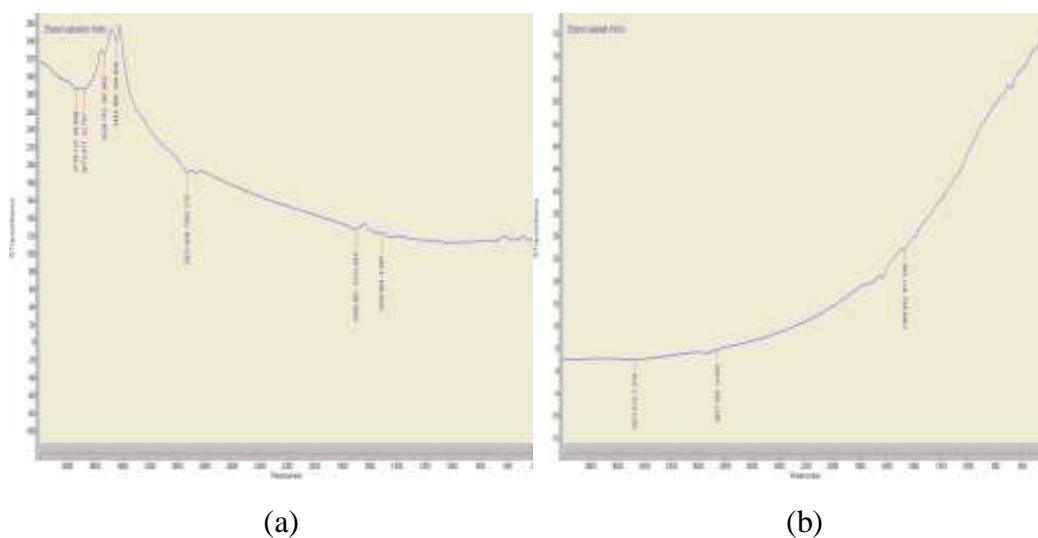
4.6 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan FTIR

Identifikasi dengan FTIR dilakukan untuk memperkuat hasil dari uji fitkomia dan identifikasi menggunakan UV-Vis yang diduga terdapat adanya

senyawa golongan flavonoid. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi berdasarkan serapan yang dihasilkan. Berikut adalah hasil identifikasi pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-Heksana daun salam.

4.6.1 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak Etanol Daun Salam

Hasil identifikasi ekstrak etanol dengan spektrofotometer FTIR didapati serapan IR yang ditampilkan dalam Gambar 4.13 dan Tabel 4.3.



Gambar 4.13 Hasil spektra FTIR ekstrak etanol daun salam (a) sebelum hidrolisis (b) setelah hidrolisis

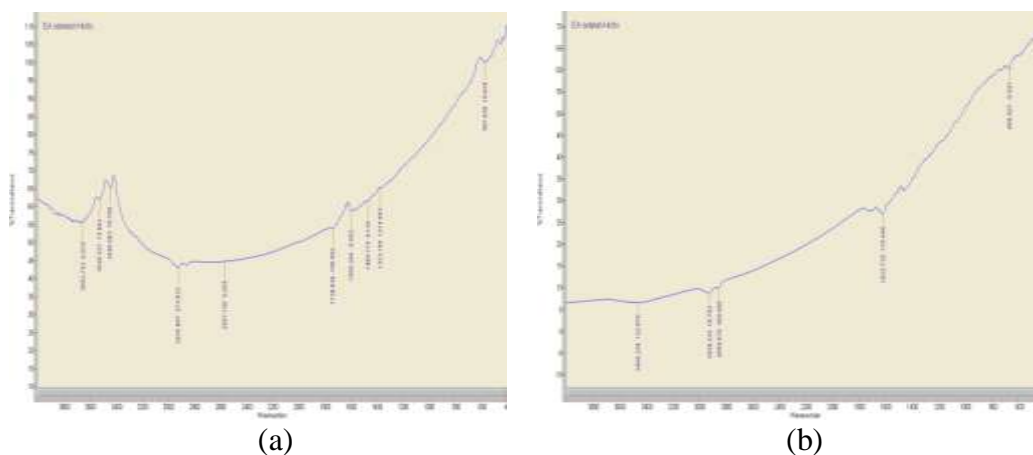
Tabel 4.3 Interpretasi spektra FTIR ekstrak etanol daun salam sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis

Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		Referensi (Socrates, 1994) (ν , cm^{-1})	Intensitas
	Sebelum Hidrolisis	Setelah Hidrolisis		
O-H stretch	3672,417	-	3700-3584	Sedang
O-H stretch	3528,193 3442,466	3473,910	3550-3250	Sedang
-CH ₃ stertchasyym	2923,908	2857,355	3000-2800	Sedang
C=C, stretch	1694,061	-	1650-1580	Sedang
NO ₂ strech	1508,064	-	1600-1500	Kuat
C-H pada CH ₂ bending	-	1465,652	1480-1440	Sedang

Berdasarkan Gambar 4.13 dan Tabel 4.3 hasil analisis spektra FTIR dari ekstrak etanol sebelum hidrolisis terdapat adanya gugus fungsi O-H *stretch* ($3672,417-3442,466\text{ cm}^{-1}$), C-H alifatik ($2923,908\text{ cm}^{-1}$) dan C=C *stretch* ($1694,061\text{ cm}^{-1}$). Sedangkan pada ekstrak etanol setelah hidrolisis didapatkan adanya gugus O-H *stretch* ($3473,910\text{ cm}^{-1}$) dan C-H alifatik ($2857,355\text{ cm}^{-1}$). Dari data spektra IR yang diperoleh menunjukkan gugus fungsi yang mengindikasikan adanya senyawa auron golongan flavonoid.

4.6.2 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak Etil Asetat Daun Salam

Berikut hasil identifikasi FTIR ekstrak etil asetat pada Gambar 4.14:



Gambar 4.14 Hasil spektra FTIR ekstrak etil asetat daun salam (a) sebelum hidrolisis (b) setelah hidrolisis

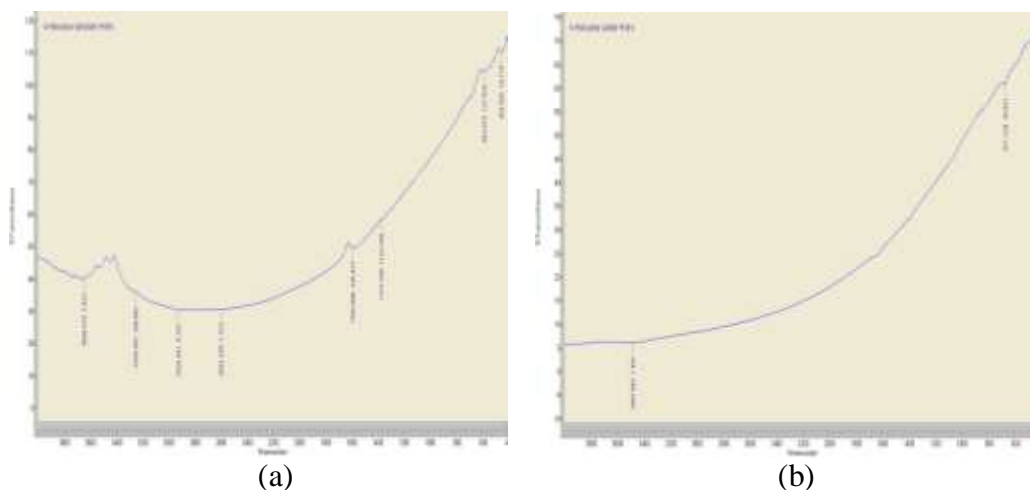
Tabel 4.4 Interpretasi spektra FTIR ekstrak etil asetat daun salam sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis

Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Referensi (Socrates, 1994) (v, cm ⁻¹)	Intensitas
	Sebelum Hidrolisis	Setelah Hidrolisis		
O-H <i>stretch</i>	3652,733	-	3700-3584	Sedang
O-H <i>stretch</i>	3528,331 3496,083	3466,234	3550-3250	Sedang
-CH ₃ <i>stertch asym</i>	2925,887	2926,232 2854,670	3000-2800	Sedang
C-H <i>stretch</i>	2567,100	-	2600-2550	Lemah
<i>Overtone aromatic</i>	1738,638	-	2000-1650	Lemah
C=C <i>stretch</i>	1595,289	1622,725	1650-1580	Sedang
C-H pada CH ₂ <i>bending</i>	1465,771	-	1480-1440	Sedang
C-H pada CH ₃ <i>bending</i>	1373,184	-	1395-1365	Sedang
C-H <i>bending</i>	567,636	669,507	690-515	Lemah

Berdasarkan Gambar 4.14 dan Tabel 4.4 didapatkan hasil interpretasi yang menunjukkan bahwa ekstrak sebelum hidrolisis terdapat adanya gugus O-H *stretch* (3652,733-3496,083 cm⁻¹), C-H alifatik (2925,887 cm⁻¹), dan C=C *stretch* (1595,289 cm⁻¹). Sedangkan pada ekstrak setelah hidrolisis didapatkan adanya gugus O-H *stretch* (3466,234 cm⁻¹), C-H alifatik (2926,232-2854,670 cm⁻¹), dan C=C *stretch* (1622,725 cm⁻¹). Dari data spektra IR yang diperoleh menunjukkan gugus fungsi yang mengindikasikan adanya senyawa flavanon golongan flavonoid.

4.6.3 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak n-Heksan Daun Salam

Spektra dan interpretasi hasil identifikasi dari ekstrak n-heksana pada Gambar 4.15 dan Tabel 4.5



Gambar 4.15 Hasil spektra FTIR ekstrak n-Heksana daun salam (a) sebelum hidrolisis (b) setelah hidrolisis

Tabel 4.5 Interpretasi spektra FTIR ekstrak n-Heksan daun salam sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis

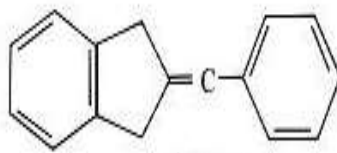
Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		Referensi (Socrates, 1994) (ν , cm^{-1})	Intensitas
	Sebelum Hidrolisis	Setelah Hidrolisis		
O-H <i>stretch</i>	3650,519	-	3700-3584	Sedang
O-H <i>stretch</i>	3255,567	3487,882	3550-3200	Kuat
-CH ₃ <i>stretch asym</i>	2926,491	-	3000-2800	Sedang
C-H <i>stretch</i>	2602,258	-	2600-2550	Lemah
C=C <i>stretch</i>	1593,698	-	1650-1580	sedang
C-H pada CH ₃ <i>bending</i>	1373,786	-	1395-1367	Sedang
=C-H	-	671,229	995-650	Sedang
C-H <i>bending (out of plane)</i>	583,876 454,505	-	600-420	Lemah

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan ekstrak n-heksana sebelum hidrolisis terdapat adanya gugus O-H *stretching* ($3650,519$ dan $3255,567 \text{ cm}^{-1}$), C-H alifatik ($2926,491 \text{ cm}^{-1}$), dan C=C *stretch* ($1593,698 \text{ cm}^{-1}$). Sedangkan pada ekstrak setelah hidrolisis terdapat adanya gugus O-H *stretch* ($3487,882 \text{ cm}^{-1}$), dan =C-H ($671,229 \text{ cm}^{-1}$). Dari data spektra IR yang

diperoleh menunjukkan gugus fungsi yang mengindikasikan adanya senyawa flavanon golongan flavonoid.

Berdasarkan hasil identifikasi dengan FTIR yang telah dilakukan ekstrak etanol sebelum dan setelah hidrolisis diduga mengandung senyawa auron golongan flavonoid. Hal ini diperkuat oleh literatur, menurut hasil penelitian Theodora, dkk., (2019) serapan khas pada senyawa auron golongan flavonoid yaitu terdapat adanya gugus-gugus fungsi seperti C-H alifatik, O-H, C-O alkohol, C=C aromatik, C-H aromatik, C-O eter dan C=O. Sedangkan pada ekstrak etil asetat, dan n-Heksana sebelum dan setelah hidrolisis diduga mengandung senyawa flavanon golongan flavonoid. Menurut hasil penelitian Suryanto, E. dan Lidya, I. M. (2016) serapan khas pada senyawa flavanon golongan flavonoid yaitu terdapat adanya gugus-gugus fungsi seperti O-H, C-H alifatik, C=C aromatik, dan C-O-C eter.

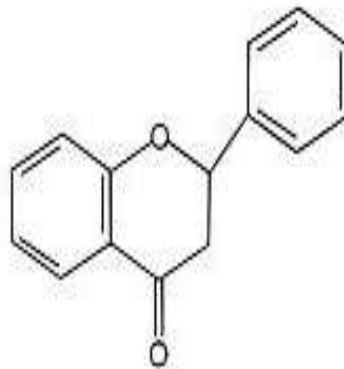
Dari intepretasi data uji fitokimia, yang diperkuat dengan identifikasi UV-VIS dan FTIR. Disimpulkan bahwa senyawa dari ekstrak etanol sebelum dan sesudah hidrolisis adalah senyawa auron golongan flavonoid dengan struktur seperti pada Gambar 4.16.



Gambar 4.16 Struktur senyawa auron golongan flavonoid

Sedangkan pada hasil ekstrak etil asetat dan n-Heksana yang didapat dari uji fitkomia, yang diperkuat dengan identifikasi UV-Vis dan FTIR. Disimpulkan bahwa senyawa dari ekstrak etil assetat dan n-Heksana sebelum dan setelah

hidrolisis adalah senyawa flavanon golongan flavonoid dengan struktur seperti pada Gambar 4.17.



Gambar 4.17 Struktur senyawa flavanon golongan flavonoid

Berdasarkan hasil spektra FTIR yang didapat, ekstrak sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis memiliki perbedaan pada jumlah daerah serapan yang didapat. Hasil ekstrak setelah hidrolisis mengalami penurunan jumlah daerah serapan pada gugus fungsi O-H (ikatan hidrogen), hal ini terjadi dikarenakan adanya pemutusan ikatan selama proses hidrolisis (Raharja, 2013).

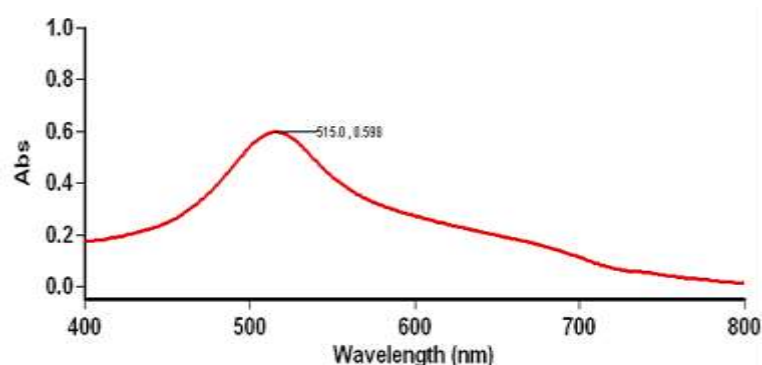
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Daun Salam dengan Metode DPPH

4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki absorbansi tertinggi. Pengukuran sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum untuk memperoleh kepekaan maksimal dan meminimalkan kesalahan. Hal ini dikarenakan pada panjang gelombang maksimum perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi memiliki nilai paling besar (Shoviyyah, 2019)

Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu karena memiliki

elektron yang tidak berpasangan yang mana dapat dibaca oleh spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515-520 nm (Prakash dkk., 2007). Pengukuran panjang gelombang DPPH sebagai kontrol bertujuan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran dan menjaga kekonstanan konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2004). Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0.2 Mm adalah 515 nm. Hasil pengukuran UV-Vis dari pengukuran yang telah dilakukan dapat dilihat pada Gambar 4.18.



Gambar 4.18 Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH

4.7.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun salam dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 515 nm. Pada pemeriksaan sampel, ekstrak diencerkan dalam beberapa konsentrasi yang kemudian direaksikan dengan DPPH dengan waktu inkubasi 30 menit yang merupakan waktu optimal untuk DPPH bereaksi (Nurdianti dan Tuslinah, 2017). Senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal akan mereduksi DPPH membentuk *1,1-difenil-2-picrylhydrazine* (DPPH-H) akibat pendonoran atom H yang menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Toripah dkk., 2014). Semakin banyak atom H dari antioksidan yang didonorkan

pada DPPH maka semakin banyak radikal antioksidan yang terbentuk (Suryanto, 2012). Hasil perhitungan nilai persen (%) aktivitas antioksidan dan nilai EC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Data hasil % aktivitas antioksidan dan nilai EC₅₀ dari berbagai hasil hidrolisis pelarut

No	Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai EC ₅₀ (ppm)
1.	Ekstrak Etanol		
	5 ppm	9,1515	
	10 ppm	14,6705	
	15 ppm	20,4042	57,24
	20 ppm	25,4920	
2.	Ekstrak Etil Asetat		
	5 ppm	4,4270	
	10 ppm	8,9692	
	15 ppm	12,5600	87,71
	20 ppm	16,4087	
3.	Ekstrak n-heksana		
	5 ppm	13,0014	
	10 ppm	22,9637	
	15 ppm	32,1852	26,11
	20 ppm	41,8531	
	25 ppm	49,6551	

Berdasarkan Tabel 4.6 diketahui bahwa nilai EC₅₀ dari ekstrak etanol dan etil asetat daun salam sebesar 57,24 ppm dan 87,71 ppm yang artinya memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat karena memiliki EC₅₀ bernilai 50-100 ppm. Sedangkan ekstrak n-heksana daun salam memiliki nilai EC₅₀ 26,11 ppm yang artinya memiliki potensi sebagai antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai EC₅₀ <50 (Wulandari, dkk., 2017). Pada ekstrak n-Heksana memiliki aktivitas antioksidan terkuat diantara ekstrak etanol dan etil asetat. Hal ini didukung oleh hasil dari uji fitokimia, yang terdapat adanya senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan pada ekstrak n-Heksana adalah

flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid. Senyawa flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid pada strukturnya mengandung gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas, sehingga berpotensi sebagai antioksidan (Ridho, dkk., 2013).

Pada penelitian Irianti, T., dkk., (2015) melakukan uji antioksidan pada ekstrak daun mengkudu dan batang brotowali dengan perlakuan hidrolisis dan tanpa hidrolisis. Dari hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun mengkudu dan batang brotowali, didapatkan hasil aktivitas penangkapan radikal DPPH dari perlakuan hidrolisis lebih besar dibanding tanpa perlakuan hidrolisis. Hal ini disebabkan karena proses hidrolisis mampu membebaskan aglikon flavonoid sehingga gugus hidroksil pada aglikon bertambah. Menurut Cao, dkk., (1997) aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksil dan konfigurasi atau kapasitas dari reaktivitas gugus hidroksil. Semakin banyak gugus hidroksil maka aktivitas antioksidannya meningkat.

4.8 Pemanfaatan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Allah Swt. menciptakan segala sesuatu yang ada dimuka bumi ini tidak ada yang sia-sia. Semua isi dan ciptaan Allah mempunyai banyak manfaat yang terkandung di dalamnya yang dapat digunakan untuk kemaslahatan hidup umat manusia. Ciptaan Allah diantaranya adalah tumbuh-tumbuhan baik yang ada di darat ataupun di laut. Allah Swt. memberikan hikmah atas segala penciptaan alam semesta supaya manusia beribadah kepada Allah Swt. dengan memikirkan, mengkaji, melakukan penelitian, dan mengamati segala fenomena alam yang menggambarkan akan kebesaran dan kekuasaan Allah Swt. Sebagaimana Allah

Swt. berfirman dalam surat Ali 'Imran ayat 190-191:

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

Artinya “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka”*”.

Dalam surat Ali 'imran ayat 190-191 terdapat lafadz *uulul albaab* yang artinya orang-orang yang berakal yang mengingat Allah Swt. Dalam hal ini ditunjukkan pada intelektual muslim yaitu mereka kelompok intelektual beriman yang mampu menyatukan kekuatan dzikir (mengingat) dan fikir (penalaran), disamping itu mempunyai kebijakan (hikmah) dalam menghadapi dan menyelesaikan masalah-masalah dunia dan kemanusiaan (Saefuddin, 1987). Salah satu cara berfikir terhadap ciptaan Allah Swt. dengan memanfaatkan dan merenungkan ciptaan-Nya diantaranya adalah mengetahui dari Al Qur'an yang telah mengabarkan tentang fakta-fakta ilmiah yang kemudian ditemukan dan dibuktikan oleh eksperimen dengan perantara manusia. Al Qur'an merupakan landasan dalam memahami kekuasaan Allah Swt. sebagaimana telah dilakukan penelitian ekstrak daun salam menggunakan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana yang kemudian dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami. Daun salam yang memiliki manfaat sebagai obat melalui uji aktivitas antioksidan. Allah Swt. berfirman dalam al Qur'an surat asy Syu'ara ayat 80.

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِي ﴿٨٠﴾

Artinya: “*dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku*”

Allah Swt. berfirman bila aku (manusia) sakit, tiada yang mampu menyembuhkan dari penyakit kecuali Allah Yang Maha Esa. Ayat ini menjelaskan bahwa yang sebenarnya menyembuhkan penyakit adalah Allah Swt. karena pada hakikatnya nikmat yang kita terima adalah dari Allah Swt. (al-Jazairi, 2009). Oleh karena itu perlu ditindak lanjuti dengan pendekatan ilmiah dan teknologi untuk memperkuat hasil bahwa daun salam tersebut benar-benar mengandung senyawa yang berguna sebagai obat melalui uji aktivitas antioksidan. Kandungan antioksidan yang terdapat dalam ekstrak daun salam dapat dijadikan sebagai pencegah oksidasi sel di dalam tubuh manusia yang disebabkan oleh radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes mellitus, aterosklerosis yang mendasari penyakit jantung, pembuluh darah dan stroke (Setiati, 2003; Shihabi, 2002; dan Giacco, 2013). Sebagaimana hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa nilai EC_{50} dari etanol dan etil asetat daun salam sebesar 57,24 ppm dan 87,71 ppm yang memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat. Sedangkan ekstrak n-heksana daun salam memiliki nilai EC_{50} 26,11 ppm yang memiliki potensi sebagai antioksidan yang sangat kuat. Semakin kecil nilai EC_{50} suatu senyawa uji, maka menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Rohman dan Riyanto, 2005).

Hasil penelitian tersebut merupakan salah satu bukti kekuasaan Allah Swt. yang memberikan akal kepada manusia untuk berpikir dan ikhtiar agar manusia dapat memanfaatkan sumber daya alam untuk mengantisipasi problematika kehidupan seperti halnya pemanfaatan daun salam sebagai antioksidan. Daun

salam selama ini dimanfaatkan sebagai bahan tambahan untuk memsak, ternyata memiliki khasiat yang sangat luar biasa. Hal ini menunjukkan kebenaran ayat-ayat al-Quran yang menjelaskan bahwa segala sesuatu yang ada di dunia tidak ada yang sia-sia, semua diciptakan dengan manfaat masing-masing. Dengan melihat tanda-tanda kekuasaan Allah Swt. yang begitu besar, sepatutnya kita harus selalu berfikir dan senantiasa berdzikir kepada Allah Swt. dalam keadaan apapun.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol diduga mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Ekstrak etil asetat diduga mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid. Sedangkan ekstrak n-heksana diduga mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Untuk hasil identifikasi dengan UV-Vis menunjukkan adanya transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid. Hasil identifikasi menggunakan FTIR ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana sebelum hidrolisis menunjukkan adanya serapan gugus O-H stretch, C-H alifatik, dan C=C stretch. Sedangkan ekstrak etanol setelah hidrolisis menunjukkan adanya gugus O-H stretch dan C-H alifatik. Ekstrak etil asetat setelah hidrolisis terdapat gugus O-H stretch, C-H alifatik, dan C=C stretch. Ekstrak n-heksana setelah hidrolisis terdapat serapan gugus O-H stretch dan =C-H
3. Ekstrak daun salam memiliki aktivitas antioksidan pada pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut sebesar 57,24 ppm, 87,71 ppm, dan 26,11 ppm.

5.2 Saran

Penelitian ini diperlukan adanya tindakan lanjut untuk melakukan identifikasi menggunakan UV-Vis dan FTIR secara kualitatif dan kuantitatif

untuk, serta perlu diidentifikasi lebih lanjut menggunakan LC-MS untuk mengetahui kandungan senyawanya.

DAFTAR PUSTAKA

- A. M. Saefuddin. 1987. *Desekularisasi Pemikiran Landasan Islamisasi*, Bandung: Mizan.
- Al-Jazairi, S. A. B. J. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Al- Aishar Jilid 6*. Jakarta: Darus Sunnah.
- Alvionita, J., Djaswir D., dan Efdi, M. (2016). Ekstraksi dan Idenstifikasi Senyawa Antosianin Dari Jantung Pisang Raja (*Musa X paradisica L.*) Serta Uji Aktivitas Antioksidan. Universitas Andalas. *Skripsi*.
- Anam, K. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (*Eucheuma cottoni*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Andersen, O. M., dan Markham, K. R. 2006. *Flavonoids: Chemistry, biochemistry, and applications*. Taylor & Francis Group.
- Astuti, M. D., Kuntorini, E. M., & Wisuda, F. P. 2014. Isolasi dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi n-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculatum*). Swartz. *Valensi* Vol. 4 No. 1, 20-24.
- Astuti, M. D., Kuntorini, E. M., dan Wisuda, F. E. 2014. Isolasi dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi n-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum swatz*). *Valensi*. Volume 4. No. 1.
- Azhar, H. Y., dkk. 2019. Identifikasi dan Uji Stabilitas Zat Warna Kuning dari Ekstrak Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmacoscript*. Vol. 2. No. 1.
- Azizah, A., dkk. 2019. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bubuk Kopi Olahan Tradisional Sungai Penuh-Kerinci Dan Teh Kayu Aro Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Farmasi Higea*. Vol. 11. No. 2.
- Bahriul, P., N. Rahman, dan A.W.M. Diah. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*. Vol. 3, No. 3: 143-149.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., 1997, Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships, *Free Rad. Biol. Med.*, 22, 749-760.
- Cordrell, A. 1981. *Introduction to Alkaloid a Biogenetic Approach*. New York: John Willey and Sons.
- Dalimartha. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubua Agriwidya.

- Darusman LK, Wahyuni WT, Alwi F. 2013. Acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of *Syzygium cumini*, *S. aromaticum* and *S. polyanthum* from Indonesia. *J Biol Sci*;13:412-6.
- Deskawi, O., Ningsih, R., Avisena, N., dan Hastuti, E. 2015. Potensi Ekstrak Kasar The Hitam (*Camellia Sinesis O.K Var. Assamica*) sebagai Pewarna (Dye) pada Pembuatan Sela Surya Tersensitilasi (SSPT). *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 4(1), 50-59.
- Deskawi, Oki, dkk, 2015, Potensi Ekstrak Kasar Teh Hitam (*Camellia Sinensis O.K. var. Assamica*) Sebagai Pewarna (dye) pada Pembuatan Sel Surya Tersensitisasi (SSPT). *Alchemy*. Vol. 4. No 1:50 – 59.
- Dewi, G, P. 2012. *Pengaruh Penambahan Dekstrin Terhadap Mutu Produk Minuman Instan Buah Naga Putih (Hylocereus polyhizus)*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Andalas. Padang.
- Dungir, Stevi G. Dewa G, Katja dan Vanda S, Kamu. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Mipa Unsrat*. 1(1): 11-15.
- Ergina dkk, 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol. Palu: Pendidikan Kimia Universitas Tadulako. *Jurnal Akademika Kimia*. Vol. 3. No. 3. Hal: 165-172.
- Ergina., S. Nuryanti., dan I. D. Pursitasari. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Ageve agustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia* 3(3):165-172
- Estiningtyas, H.R. 2010. *Aplikasi Edible Film Maizena dengan Penambahan Ekstrak Jahe sebagai Antioksidan Alami pada Coating Sosis Sapi*. Skripsi. Hal 6-9.
- Fadhly, E., Kusriani, D., dan Fachriyah E. 2015. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Daun *Rivina Humilis L.* serta Uji Sitotoksik menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 18 (2): 67-72.
- Fadli, Suhaimi, dan Idris, M. 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.*) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Medical Sains*. Vol. 4, No. 1.
- Fitri, D., dkk. 2020. Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan Dengan Metode Gelasi Ionik. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. Vol. 1. Hal: 61-69.
- Garcia, J.L.L dan Castro, M.D.L. 2004. Ultrasound-assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to The Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds. *Journal Chromatography*. A1034: 237-242.

- Giacco, F. and Brownlee M. 2010. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circ Res.* 107:1058-70.
- Gunawan, D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam..* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Handayani, V., Ahmad, A.R., & Sudir, M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M (Smith) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmaci Science Research.* Vol. 1. No. 2.
- Har, L.W. & Ismail, I.S., 2012. Antioxidant activity, total phenolics and total flavonoids of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp leaves. *Int. Journal Medicinal Aromatic Plants.* 2(2), pp.219–228.
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia: Penurunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan Kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro.* Bandung: ITB.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia penuntn cara modern menganalisis tumbuhan. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro.* Bandung: ITB.
- Harismah, K. dan Chusniatun, 2016. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Sebagai Obat Herbal Dan Rempah Penyedap Makanan. *Warta Lpm.* Pp. Vol .19 No. 2 110-118.
- Hartini, v. A., Khairul, A., dan Bambang, C. 2012. Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Daun Ketapang Kencana (*Terminalia Muelleri* Benth) dan Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi.* 15(2): 47-52.
- Haryati, N. A., C. Saleh, dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp .) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13, pp. 35–40.
- Inayati, H. 2007. Potensi Antibakteri Daun Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis* Forst.). *Skripsi.* IPB, Bogor.
- Kristanti, Alfinda Novi., dkk. 2008. “Buku Ajar Fitokimia”. Airlangga University Press. Surabaya.
- Leksono, W. B., dkk. 2018. Jenis Pelarut Metanol Dan N-Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Gelidium* sp. dari Pantai Drini Gunungkidul -Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis.* Vol. 21 (1): 9-16.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida dan Alkaloida.* Medan: Fakultas MIPA, USU.
- Liliwirianis, et al . 2011. Preliminary Studies On Phytochemical Screening Of Ulam And Fruit From Malaysia. *EJournal Of Chemistry.* Vol. VIII.
- Lutfillah, M. 2008. *Karakteristik Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angrest (*Spatoda campanulata* Beauty) serta Uji Aktivitasnya*

sebagai Antibakteri secara In Vitro. Skripsi. Malang : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

- Mabruroh, E. Q., Mursiti, S., & Kusumo, E. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Murbei (*Morus alba* Linn). *Indonesian Journal of Chemical Science* Vol. 8 No. 1, 16-22.
- Mardiyah, U. 2012. Ekstraksi Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung.
- Marliana, D.S., Venty, S., dan Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*. Vol. 3. No. 1: 29.
- Marliana, E. 2012. Aktivitas Ekstrak Daun Andong (*Cordyline Fruticosa* [L] A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientifie*. Vol. 11, No. 1.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn*, 211-219.
- Murtadlo, Y., Kusriani, D., dan Fachriyah E. 2013. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BLST (Brine Shrimp Lethality Test). *Chem Info*. Vol.1 No.1: 379-385.
- Napu, D. D., dkk. 2012. Isolasi dan Identifikasi Kandungan Senyawa Aktif Antifeedant dari Biji Tumbuhan Jarak Kepyar (*Ricinus Communis* Linn). Gorontalo: FMIPA Universitas Negeri Gorontalo.
- Neldawati, dkk. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*. Vol. 2. 76-83.
- Nurdianti, L., dan Tuslinah, L. 2017. Uji Efektifitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) terhadap DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* Vol. 17 No. 1, 87-96.
- Nurhayati, T, D. Aryanti, dan Nurjanah. 2009. Kajian Awal Potensi Ekstrak Spons Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional*. 2(2):43-51.
- Perdana, F., W.S. Deden, dan R.D. Rahmi. 2016. Penapisan Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry), Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walpers), Serta Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) Asal Arboretum Garut. *Jurnal Farmako Bahari*. Vol. 7, No. 2.

- Perumal, S. *et al.*, 2012. Potential Antiradical Activity and Cytotoxicity Assessment of *Ziziphus mauritiana* and *Syzygium polyanthum*. *Int. Journal of Pharmacology*, 8(6), pp.535–541.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories* Vol. 10 No. 2, 1-4.
- Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. Vol. 19. No. 2.
- Putra, I. A., Erly, dan Masri, M. 2015. Uji Efek Antibakteri Etanol Kulit Batang Salam {*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp} terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara Invitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Padang: Universitas Andalas.
- Rachman, A., Wardatun, S., dan Weandarlina, I. Y. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Kimia*. Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Pakuan Bogor.
- Raharja, S. Dan Dwi, C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Monoasilgliserol Omega-3 (Monoester Omega-3). *E-Jurnal Agroindustri Indonesia*. Vol. 2, No. 1.
- Ridho, E. A, dkk., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL). *Naskah Publikasi*. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Ridho, Ery Al, dkk. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum dengan Metode DPPH (2,2 Diifenil-1-Pikrilhidrazil)*. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Rikomah, S. E., dan Elmitra. 2017. Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Uli (*Musa paradisiaca*). *SCIENTIA*. Vol 7(1).
- Rivai, H., Putra, R. Y., Krisyanella. 2012. Penentuan Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstrak Terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat Dan Aktifitas Antioksidan Dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Higea*. 4(1): 16-23.
- Rizki, M. I., dan Ester, M. H. 2015. Review: Aktivitas Farmakologis, Senyawa Aktif, dan Mekanisme Kerja Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). *Prosiding Seminar Nasional dan Workshop*.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata*. Bandung: ITB.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.

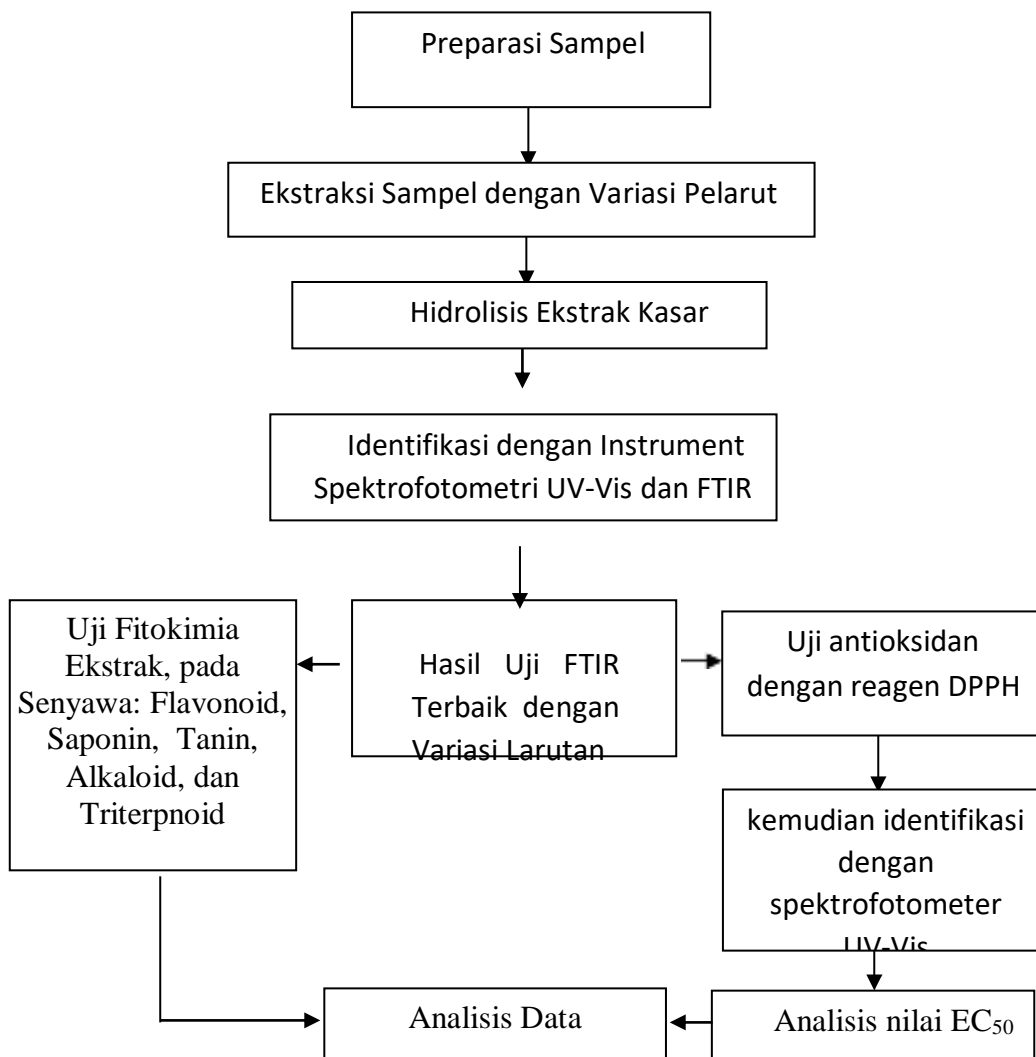
- Rosyda, A. I. dan Ersam, T. 2009. *Peningkatan Kualitas Kayu (Instia biuga): Kompleksasi Logam Cu(II), Fe(III) dan Zn(II) oleh Senyawa Tanin. Prosiding Kimia*. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Saifudin, A., dkk., 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus rouseus* (L) G. Don Berbunga Merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol. 7. No. 2: 92-102.
- Sanger, G., Widjanark, S.B., Kusnadi, J., & Berhimpon, S. 2013. Antioxidant Activity of Methanol Extract f Sea Weeds Obtained from North Sulawesi. *Food Sci. Quality Manag.* 19:2224-6088.
- Sangi M., dkk., 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. Vol. 1. Hal: 47-53.
- Sankari, G., dkk., 2010. Analysis of Serum Immunoglobulins Using Fourir Transform Infrared Spectral Measurements. *Biol Med.* 2(3):42-48.
- Sari, P. P., Rita, W. S., & Puspawati, N. M. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). *Jurnal Kimia* Vol. 9 No. 1, 27-34.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta. Hlm 35-36.
- Satya, B. 2013. *Koleksi Tumbuhan Berkhasiat*. Edisi I. Yogyakarta: Rapha Publishing.
- Saxena, M., Saxena, J., Singh, D. dan Gupta, A., (2013), Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Vol. 1. No. 6.
- Setiati S. 2003. Radikal Bebas, Antioksidan, dan Proses Menua. *Medika*. 6:366-9.
- Shihabi A, et al. 2002. Antioxidant Therapy for Atherosclerotic Vascular Disease: The Promise and The Pitfalls. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 282 (3): 797-802.
- Shoviyyah. 2019. Uji Aktivitas Antoksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan Metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuca* dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta. *Skripsi*.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*.35(2): 77-83.

- Sie, Jessica Oeinitan. 2013. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linn.*) Hasil Pengadukan dan Reflux. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol. 2 No. 1.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Snyder, C. R., J. J. Kirkland, and J. L. Glajach. 1997. *Practical HPLC Method Development, Second Edition*. New York: John Wiley and Sons, Lnc. Pp. 722-723.
- Sudarmadji, S. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty: Yogyakarta.
- Suhartati, T., 2017, *Dasar - Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*, AURA, Bandar Lampung, Indonesia.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Surabaya: Putra Media Nusantara.
- Suryanto, E. dan Lidya, I. M. 2016. Aktivitas *Singlet Oxygen Quenching* Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etil Asetat Tongkol Jagung (*Zea mays*). *Chem. Prog.* Vol. 9. No. 2.
- Theodora, C. T., Gunawan, I. W. G., dan Swantara I. M. D. 2019. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid pada Ekstrak Etil Asetat Daun Gedi (*Abelmoschus manihot L.*). *Jurnal Kimia*. 13 (12): 131-138.
- Toripah, S. S., Abidjulu, J., dan Wehantouw, F. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa olifera Lam.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 3. No.4. ISSN 2302-2493.
- Torres, N.M. dkk. 2017. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*. 7:47.
- Trisanti, Dewi, dkk., 2018. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L.*). Depok: Program Studi Teknologi Bioproses Fakultas Teknik Universitas Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. ISSN 1693-4393.
- Underwood, A.L and R.A Day, Jr. 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Waji, R.A, A. Sugrani. 2009. Flavonoid (Quercetin). *Skrispsi*. Makasar: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin.
- Wilapangga, A. dan Sari, L.P. 2018. Analisis Fitokimia Dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). *IJOB*. Vol. 2, No. 1.
- Wulandari, A. P., Frida, N., Annisa, E. P., dan Dialekha, R. P. 2010. Identifikasi Mikroalga di sekitar Pantai Pangandaran dan Potensi Pertumbuhannya pada Formulasi Medium Ekstrak Tauge (MET). *Prosiding Seminar Nasional Limnologi V*. Universitas Padjajaran.

- Yen, G.C. & H-Y Chen. 1995. Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to their Antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43(1), 27-32.
- Zuhra, dkk. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgonus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. Vol. 3, No. 1.

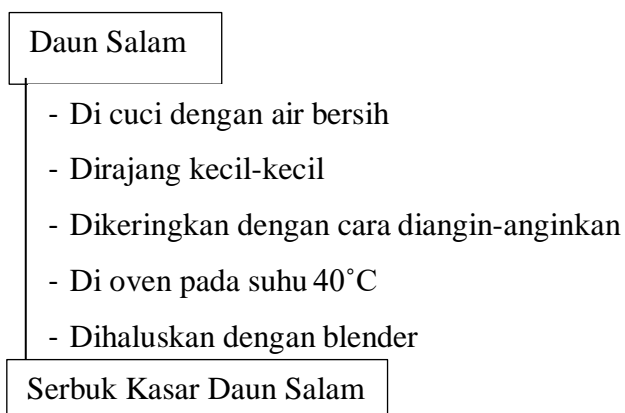
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

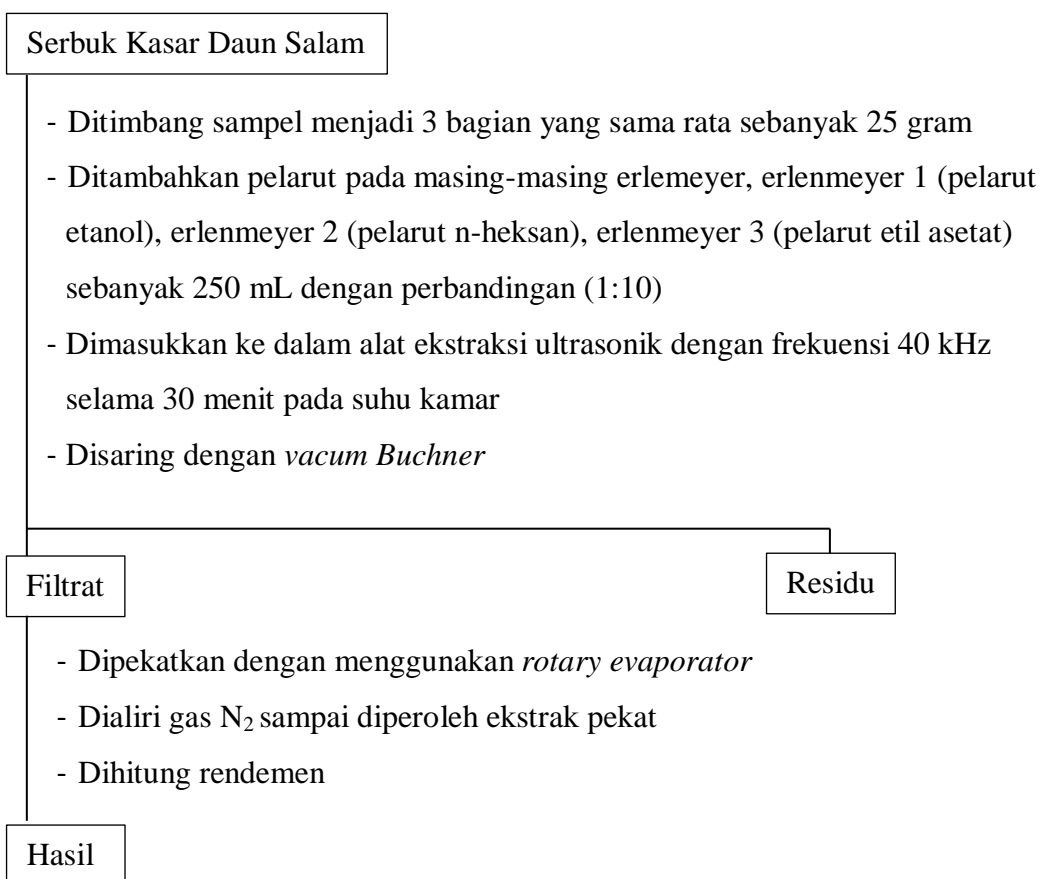


Lampiran 2. Skema Kerja

1. Preparasi Sampel



2. Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Ultrasonik



3. Hidrolisis senyawa aktif

Ekstrak pekat

- Ditambahkan HCl 2 N (10 mL/ 5 gram residu)
- Dinetralkan menggunakan NaHCO₃ hingga pH netral
- Dianalisa dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

4. Transisi Elektron Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak daun salam

- Diambil 4 mL yang dilarutkan sesuai pelarutnya
- Dimasukkan kedalam kuvet hingga sepertiganya
- lalu dianalisis dalam kisaran panjang gelombang 200-800 nm sehingga spektra
- Ditandai panjang gelombang dan absorbansinya pada puncak yang terbent

Hasil

5. Uji Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Ekstrak Daun Salam

- Dimasukkan sebanyak 0,5 mL kedalam tabung reaksi
- Dilarutkan dengan 2 mL etanol 50% panas
- Ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan HCl pekat 5 tetes
- Diamati perubahan yang terjadi

Hasil

b. Uji Saponin

Ekstra Daun

- Dimasukkan sebanyak 0,5 mL kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan air (1:1)
- Dikocok selama 1 menit atau hingga terbentuk busa
- Ditambahkan 2-3 tetes HCl 1N

Hasil

c. Uji Tanin

Ekstrak Daun Salam

- Dimasukkan sebanyak 05 mL kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1%

Hasil

d. Uji Alkaloid

Ekstrak Daun Salam

- Dimasukkan sebanyak 05 mL kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan 0,5 mL HCl 2N
- Dibagi larutan menjadi 2 bagian

Tabung 1

- Ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff

Hasil

Tabung 2

- Ditambahkan reagen Mayer

Hasil

e. Uji Triterpenoid

Ekstrak Daun Salam

- Dimasukkan sebanyak 05 mL kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan 2-3 tetes Liebermann Burchard

Hasil

6. Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

DPPH 0,2 mM

- Diambil 1,5 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan pelarut 4,5 mL
- Didiamkan selama 10 menit
- Dimasukkan dalam kuvet
- Diukur absorbansi panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

b. Penentuan waktu kestabilan pengukuran antioksidan

Ekstrak Daun Salam

- Dibuat konsentrasi 100 ppm sebanyak 25 mL
- Diambil 4,5 mL
- Ditambahkan 1,5 mL larutan DPPH 0.2 Mm
- Dimasukkan larutan dalam kuvet
- Diukur absorbansi pada λ_{maks}
- Dicari waktu kestabilan pada rentang 5-120 menit

Hasil

c. Pengukuran potensi antioksidan pada sampel

1) Absorbansi Kontrol

DPPH 0,2 mM

- Diambil 1,5 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan 4,5 mL pelarut ekstrak
- Ditutup abung dengan tisu
- Diinkubasi pada suhu 37°C
- Dimasukkan dalam kuvet
- Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal

Hasil

2) Absorbansi sampel dengan variasi kosentrasi

Ekstrak Daun Salam

- Dilarutkan dengan masing-masing pelarutnya dengan kosentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm
 - Diambil masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL
 - Ditambahkan larutan DPPH 1,5 mL
 - Diinkubasi pada suhu 37°C
 - Dimasukkan dalam kuvet
 - Diukur absorbansi pada λ_{maks}
 - Dihitung persentase aktivitas antioksidan dengan menggunakan rumus :
- $$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$
- Dianalisis

Hasil

7. Transisi Elektron Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Hasil Uji Antioksidan

- Disiapkan rangkaian instrumen FTIR
- Ditetaskan ekstrak pada pelet KBr
- Dicampurkan dan dihaluskam
- Dipress
- Dianalisis data pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1}

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Pembuatan Reagen

A. Pembuatan Larutan HCl 2N dalam 50 mL

$$\begin{aligned}
 \text{Densitas} &= 1,19 \text{ gr/mL} \\
 \text{Konsentrasi} &= 37\% \\
 \text{Volume} &= 50 \text{ mL} \\
 \text{Mr HCl} &= 36,5 \text{ gr/mol} \\
 2 \text{ N} &\sim 2\text{M} \\
 \text{Molaritas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= \frac{1 \times 37\% \times 1190/\text{lg}}{36,42 \text{ g/mol}} \\
 &= 12,09 \text{ N}
 \end{aligned}$$

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

Jadi untuk membuat larutan HCl 2N sebanyak 50 mL dibutuhkan HCl 37% sebanyak 8,27 mL.

B. Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$\begin{aligned}
 \text{Densitas} &= 1,19 \text{ gr/mL} \\
 \text{Konsentrasi} &= 37\% \\
 \text{Volume} &= 50 \text{ mL} \\
 \text{Mr HCl} &= 36,5 \text{ gr/mol} \\
 2 \text{ N} &\sim 2\text{M} \\
 \text{Molaritas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= \frac{1 \times 37\% \times 1190/\text{lg}}{36,42 \text{ g/mol}} \\
 &= 12,09 \text{ N}
 \end{aligned}$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$$= \frac{50 \text{ mL} \times 1\text{N}}{12,09}$$

$$= 4,13 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat larutan HCl 2N sebanyak 50 mL dibutuhkan HCl 37% sebanyak 4,13 mL.

C. Pembuatan larutan etanol 50%

$$M \times V_1 = M \times V_2$$

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = 12,5 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat etanol 50% diambil etanol 99,8 % sebanyak 12,5 mL kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas.

D. Pembuatan larutan FeCl₃ 1% (b/v)

$$\text{FeCl}_3 \text{ 1\%} = \frac{1 \text{ gr}}{100 \text{ mL}} \text{ (1 gram dalam 100 mL)}$$

E. Pembuatan Larutan DPPH 0,2 Mm

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol

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

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

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

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

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

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

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

3.2 Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

A. Pembuatan antioksidan pembanding 100 ppm

$$100 \text{ ppm ekstrak dari masing-masing variasi pelarut} = \frac{1 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}} = 100 \text{ ppm}$$

B. pembuatan larutan sampel 25 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 25 ppm diperlukan larutan stok 100 ppm sebanyak 2,5 mL.

C. pembuatan larutan sampel 20 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 20 ppm diperlukan larutan stok 100 ppm sebanyak 2 mL.

D. pembuatan larutan sampel 15 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 15 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 15 ppm diperlukan larutan stok 100 ppm sebanyak 1,5 mL.

E. pembuatan larutan sampel 10 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 10 ppm diperlukan larutan stok 100 ppm sebanyak 1 mL.

F. pembuatan larutan sampel 5 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 5 ppm diperlukan larutan stok 100 ppm sebanyak 0,5 mL.

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen

$$\% \text{Rendemen Etanol} = \frac{0,979 \text{ gr}}{30 \text{ gr}} \times 100 = 3,265\%$$

$$\% \text{Rendemen Metanol} = \frac{0,394 \text{ gr}}{30 \text{ gr}} \times 100 = 1,314\%$$

$$\% \text{Rendemen Air} = \frac{0,222 \text{ gr}}{30 \text{ gr}} \times 100 = 0,740\%$$

Jenis Pelarut	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
Etanol	Hijau Tua Pekat	0,979	3,265
Etil Asetat	Hijau Tua Pekat	0,394	1,314
n-Heksana	Kuning Kecoklatan	0,222	0,740

Lampiran 5. Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam

4.1 Etanol

Kosentrasi	A1	A2	A3	Abs. Rata-rata
Kontrol	0.3924	0.5208	0.3762	0.4298
5 ppm	0.3639	0.4787	0.3288	0.3905
Kontrol	0.3916	0.5202	0.3765	0.4294
10 ppm	0.3393	0.4582	0.3018	0.3664
Kontrol	0.3922	0.5215	0.3777	0.4305
15 ppm	0.3164	0.4324	0.2791	0.3426
Kontrol	0.3919	0.5267	0.3771	0.4319
20 ppm	0.3054	0.4029	0.2571	0.3218
Kontrol	0.394	0.5228	0.3805	0.4324
25 ppm	0.2741	0.3832	0.2328	0.2967

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol

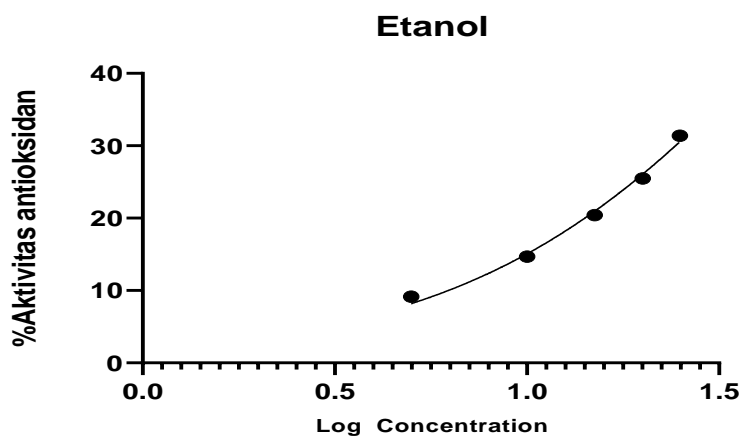
$$\%EC_{50} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Kosentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	%Aktivitas Antioksidan (y)	Log Kosentrasi (x)
5	0.4298	0.3905	9.1515	0.6990
10	0.4294	0.3664	14.6705	1.0000
15	0.4305	0.3426	20.4042	1.1761
20	0.4319	0.3218	25.492	1.3010
25	0.4324	0.2967	31.3883	1.3979

Etanol

Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		
Different curve for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
LogEC50	1,758	
HillSlope	0,9915	
EC50	57,24	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	1,664 to 1,889	
HillSlope	0,7999 to 1,204	
EC50	46,16 to 77,52	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R squared	0,9921	
Sum of Squares	2,416	
Sy.x	0,8974	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	

Top	= 100,0	
LogEC50	1,758	1,758
HillSlope	0,9915	0,9915
EC50	57,24	57,24
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	1,664 to 1,889	1,664 to 1,889
HillSlope	0,7999 to 1,204	0,7999 to 1,204
EC50	46,16 to 77,52	46,16 to 77,52
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R squared	0,9921	0,9921
Sum of Squares	2,416	2,416
Sy.x		0,8974
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	



4.2 Etil Asetat

Kosentrasi	A1	A2	A3	Abs. Rata-rata
Kontrol	0.393	0.5217	0.3751	0.4299
5 ppm	0.3823	0.5027	0.3477	0.4109
Kontrol	0.393	0.5225	0.3767	0.4307
10 ppm	0.3628	0.4803	0.3332	0.3921
Kontrol	0.394	0.5216	0.375	0.4302
15 ppm	0.3491	0.4615	0.3179	0.3762
Kontrol	0.3939	0.5223	0.3758	0.4307
20 ppm	0.3348	0.4472	0.298	0.3600
Kontrol	0.3957	0.5253	0.3798	0.4336
25 ppm	0.3172	0.4299	0.2833	0.3435

Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat

$$\%EC_{50} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Kosentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	%Aktivitas Antioksidan (y)	Log Kosentrasi (x)
5	0.4299	0.4109	4.427	0.6990
10	0.4307	0.3921	8.9692	1.0000
15	0.4302	0.3762	12.56	1.1761
20	0.4307	0.3600	16.4087	1.3010
25	0.4336	0.3435	20.7872	1.3979

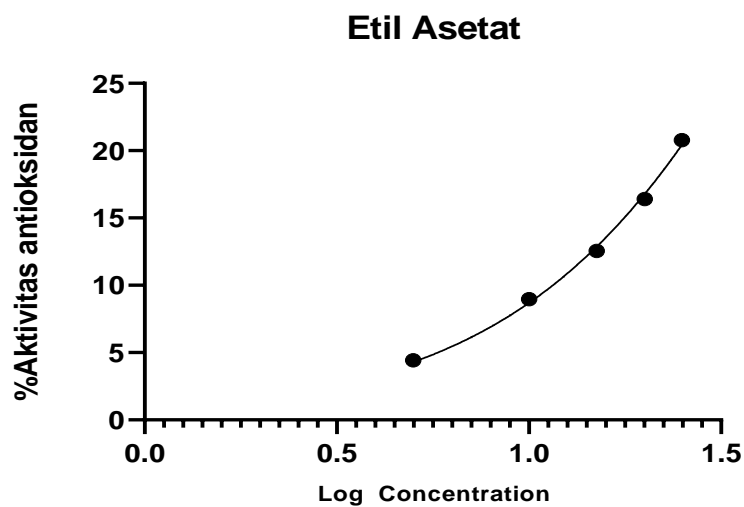
Etil Asetat

Comparison of Fits

Can't calculate

Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		
Different curve for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
LogEC50	1,943	
HillSlope	1,083	
EC50	87,71	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	1,864 to 2,040	
HillSlope	0,9513 to 1,226	
EC50	73,13 to 109,5	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R squared	0,9972	
Sum of Squares	0,4528	
Sy.x	0,3885	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
LogEC50	1,943	1,943

HillSlope	1,083	1,083
EC50	87,71	87,71
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	1,864 to 2,040	1,864 to 2,040
HillSlope	0,9513 to 1,226	0,9513 to 1,226
EC50	73,13 to 109,5	73,13 to 109,5
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R squared	0,9972	0,9972
Sum of Squares	0,4528	0,4528
Sy.x		0,3885
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	



4.3 n-Heksana

Kosentrasi	A1	A2	A3	Abs. Rata-rata
Kontrol	0.4763	0.3943	0.5231	0.4646
5 ppm	0.4092	0.3436	0.4597	0.4042
Kontrol	0.4741	0.3952	0.5229	0.4641
10 ppm	0.3586	0.2965	0.4174	0.3575
Kontrol	0.4746	0.3933	0.5228	0.4636
15 ppm	0.3106	0.2537	0.3788	0.3144
Kontrol	0.4741	0.3932	0.5228	0.4634
20 ppm	0.26	0.2167	0.3316	0.2694
Kontrol	0.4751	0.3931	0.5234	0.4639
25 ppm	0.241	0.1727	0.2869	0.2335

Aktivitas antioksidan ekstrak n-Heksan

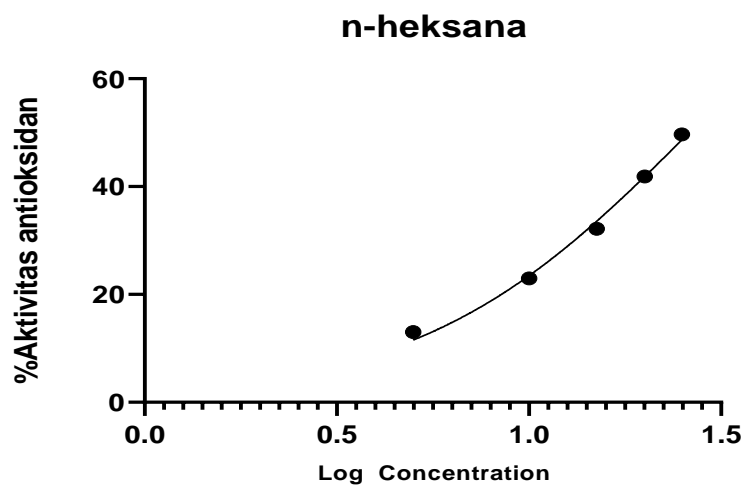
$$\%EC_{50} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Kosentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	%Aktivitas Antioksidan (y)	Log Kosentrasi (x)
5	0.4646	0.4042	13.0014	0.6990
10	0.4641	0.3575	22.9637	1.0000
15	0.4636	0.3144	32.1852	1.1761
20	0.4634	0.2694	41.8531	1.3010
25	0.4639	0.2335	49.6551	1.3979

n-Heksana

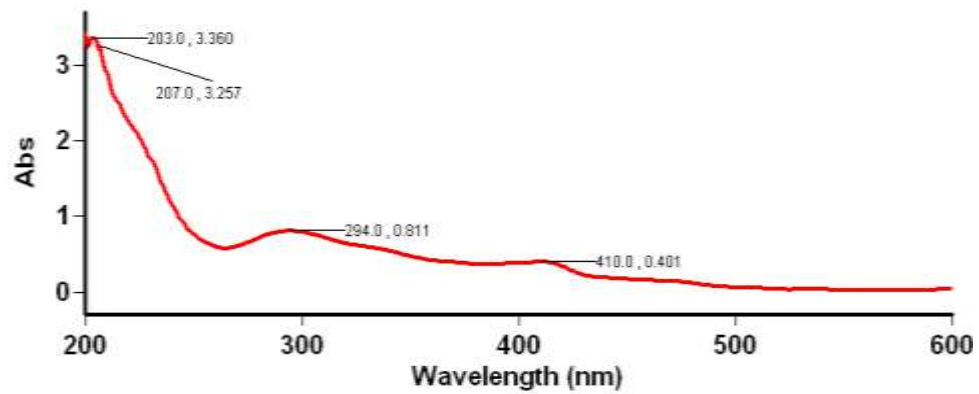
Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		
Different curve for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
LogEC50	1,417	
HillSlope	1,232	
EC50	26,11	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	1,375 to 1,472	
HillSlope	1,017 to 1,471	
EC50	23,71 to 29,62	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R squared	0,9938	
Sum of Squares	5,255	
Sy.x	1,324	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	

LogEC50	1,417	1,417
HillSlope	1,232	1,232
EC50	26,11	26,11
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	1,375 to 1,472	1,375 to 1,472
HillSlope	1,017 to 1,471	1,017 to 1,471
EC50	23,71 to 29,62	23,71 to 29,62
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R squared	0,9938	0,9938
Sum of Squares	5,255	5,255
Sy.x		1,324
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	



Lampiran 6. Hasil Uji Spektrofotometer UV-Vis

6.1 Lamdha Maks Ekstrak Etanol Daun Salam



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 22 Feb 12:17:01 AM 2008

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Sebelum Hidrolisis Etanol Encer (18-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Sebelum Hidrolisis Etanol

Collection Time 2/22/2008 12:17:05 AM

Peak Table

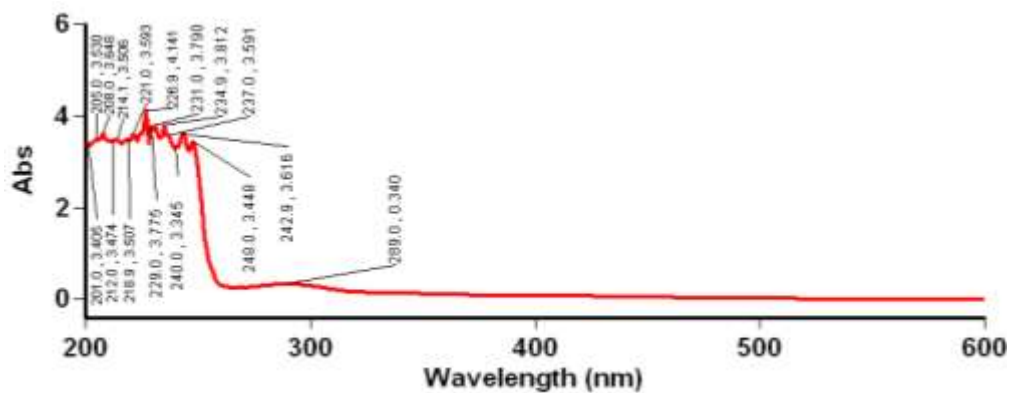
Peak Style Peaks

Peak Threshold 0.0100

Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
665.0	0.143
608.0	0.049
410.0	0.401
294.0	0.811
207.0	3.257
203.0	3.360

6.2 Lamdha Maks Ekstrak Etil Asetat Daun Salam



Scan Analysis Report

Report Time : Mon 28 Jun 02:26:42 PM 2021

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Sebelum Hidrolisis Etil Asetat (28-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Etil Asetat Sebelum Hidrolisis

Collection Time 6/28/2021 2:27:28 PM

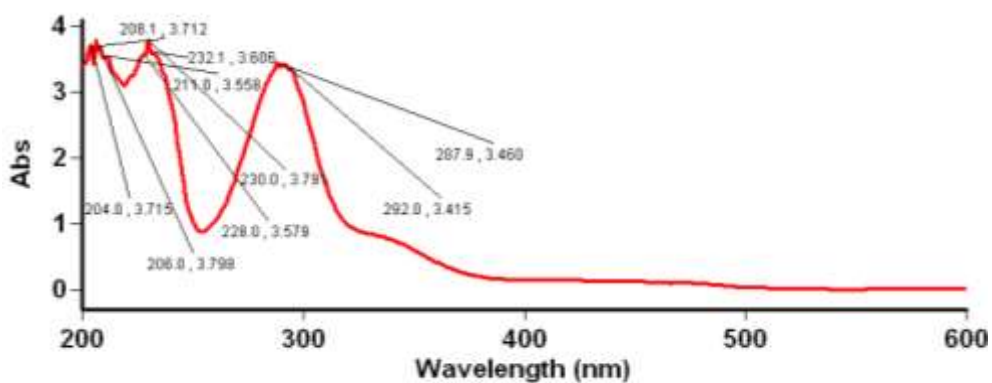
Peak Table

Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
666.9	0.031
289.0	0.340
248.0	3.448
242.9	3.616
240.0	3.345
237.0	3.591
234.9	3.812
231.0	3.790

229.0	3.775
226.9	4.141
221.0	3.593
218.9	3.507
214.1	3.506
212.0	3.474
208.0	3.648
205.0	3.530
201.0	3.405

6.3 Lamdha Maks Ekstrak n-Heksana Asetat Daun Salam



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:32:50 AM 2021

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Sebelum Hidrolisis n-Heksana (18-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Sebelum Hidrolisis n-Heksana

Collection Time 6/18/2021 10:33:24 AM

Peak Table

Peak Style Peaks

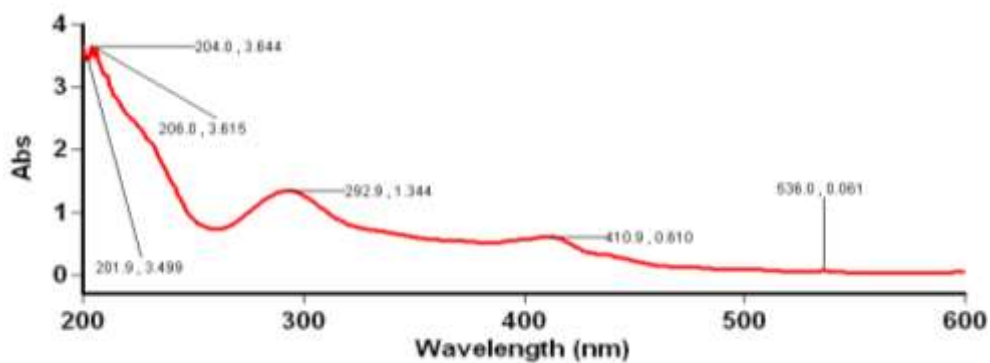
Peak Threshold 0.0100

Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm) Abs

669.0	0.034
292.0	3.415
287.9	3.460
232.1	3.606
230.0	3.791
228.0	3.579
211.0	3.558
208.1	3.712
206.0	3.798
204.0	3.715

6.4 Lamdha Maks Ekstrak Etanol Daun Salam Sesudah Hidrolisis



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:26:10 AM 2021

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Hidrolisis Etanol (18-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Hidrolisis Etanol

Collection Time 6/18/2021 10:26:16 AM

Peak Table

Peak Style Peaks

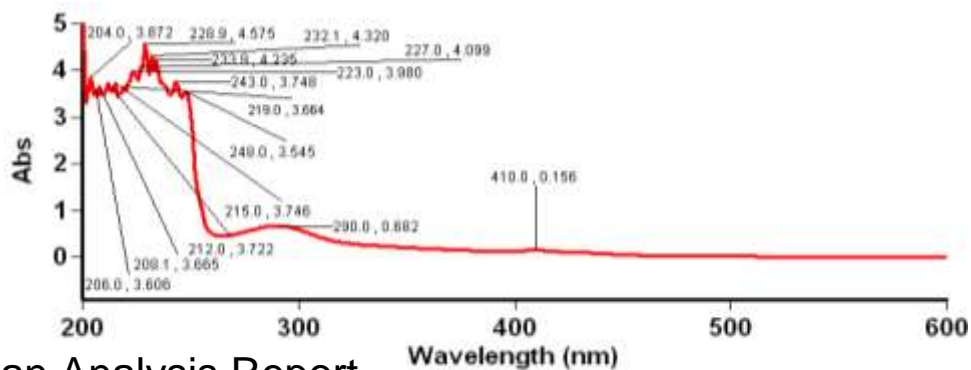
Peak Threshold 0.0100

Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm) Abs

665.0	0.214
606.9	0.060
536.0	0.061
410.9	0.610
292.9	1.344
206.0	3.615
204.0	3.644
201.9	3.499

6.5 Lamdha Maks Ekstrak Etil Asetat Salam Sesudah Hidrolisis



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:41:00 AM 2021

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Hidrolisis Etil Asetat (18-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Hidrolisis Etil Asetat

Collection Time 6/18/2021 10:41:06 AM

Peak Table

Peak Style Peaks

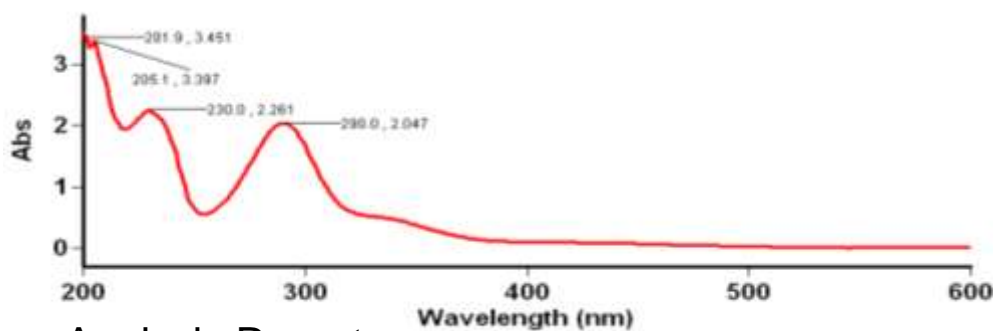
Peak Threshold 0.0100

Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
666.0	0.043
410.0	0.156
290.0	0.682
248.0	3.545
243.0	3.748
233.9	4.235
232.1	4.320
228.9	4.575
227.0	4.099
223.0	3.980
219.0	3.664

215.0	3.746
212.0	3.722
208.1	3.665
206.0	3.606
204.0	3.872

6.6 Lamdha Maks Ekstrak n-Heksana Salam Sesudah Hidrolisis



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:35:32 AM 2021

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Hidrolisis n-Heksana (18-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Hidrolisis n-Heksana

Collection Time 6/18/2021 10:35:37 AM

Peak Table

Peak Style Peaks

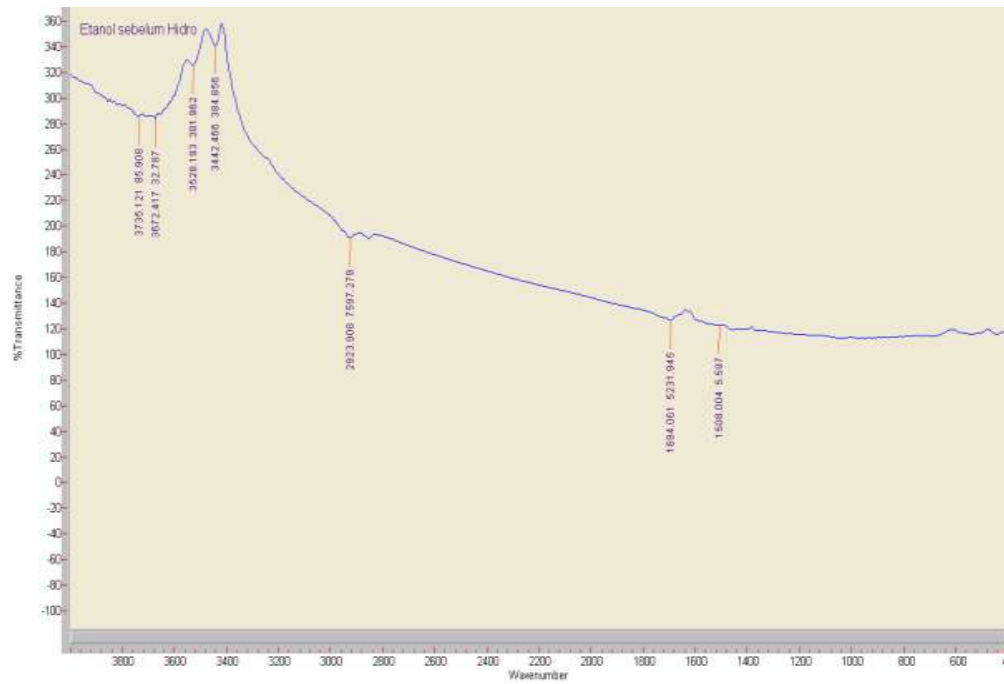
Peak Threshold 0.0100

Range 799.9nm to 200.0nm

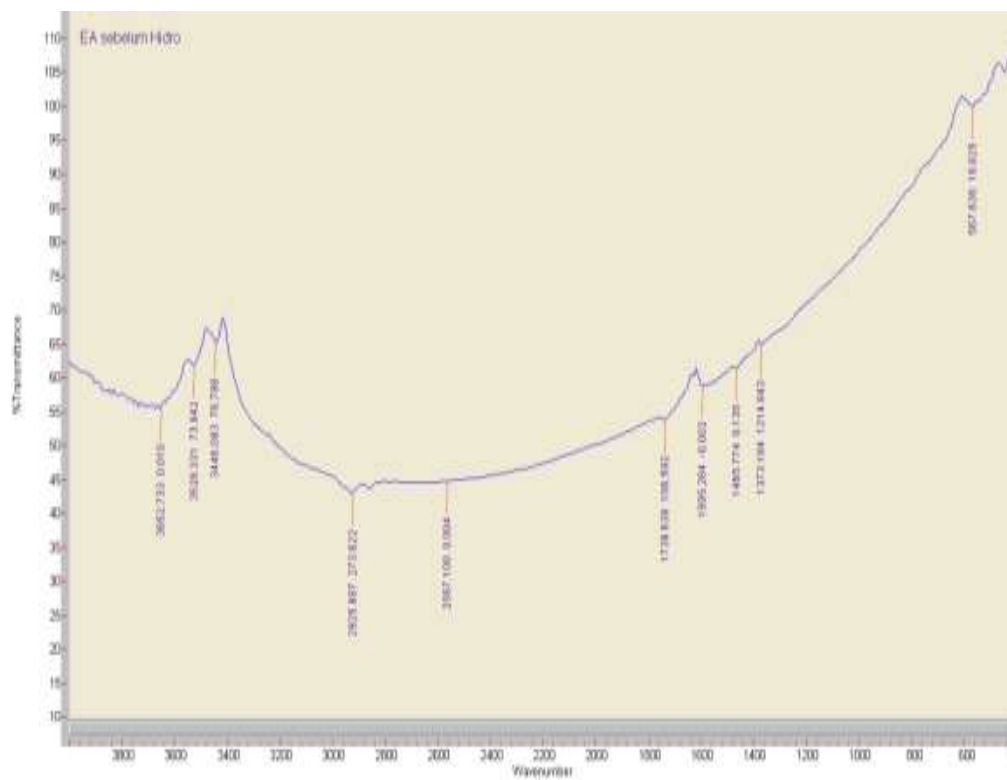
Wavelength (nm)	Abs
669.0	0.026
290.0	2.047
230.0	2.261
205.1	3.397
201.9	3.451

Lampiran 7. Hasil Data FTIR

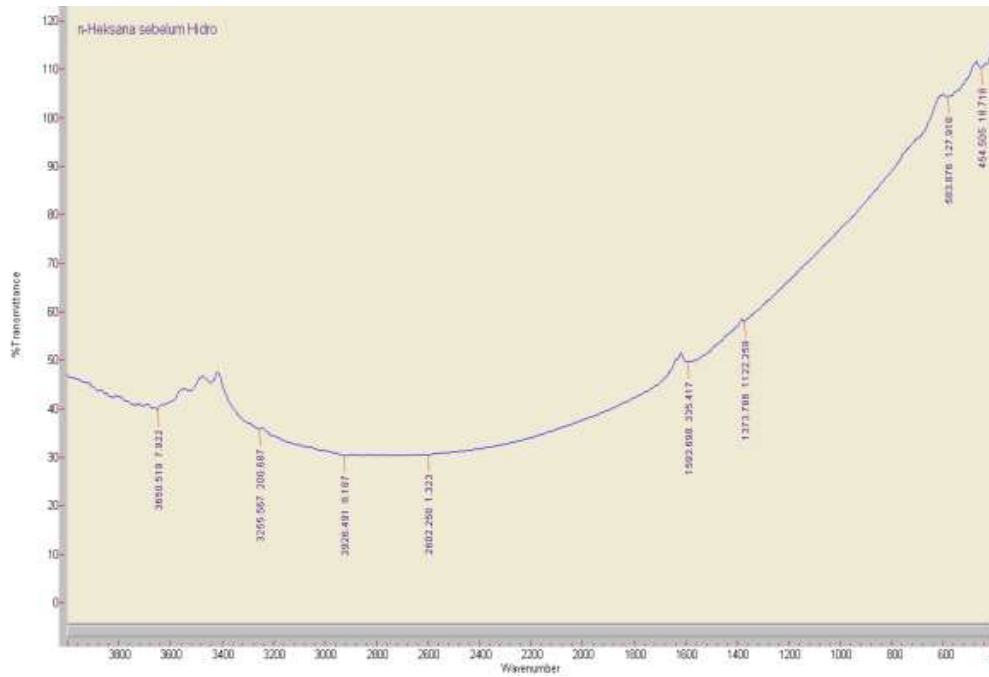
7.1 Ekstrak Daun Salam Sebelum Hidrolisis



Gambar L.7.1 Spektra FTIR ekstrak etanol



Gambar L.7.2 Spektra FTIR ekstrak etil asetat

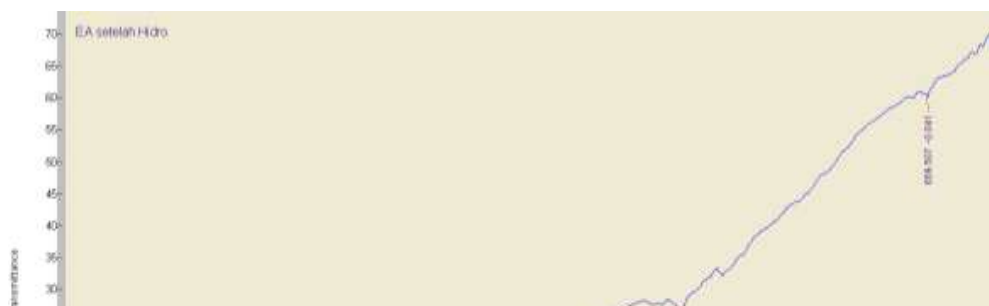


Gambar L.7.3 Spektra FTIR ekstrak n-heksana

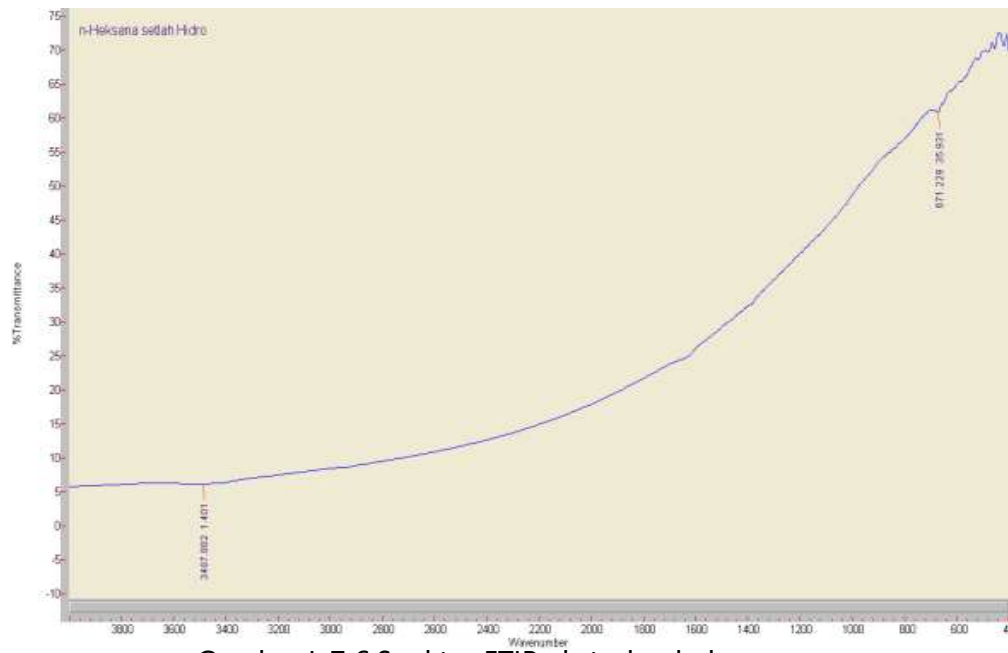
7.2 Ekstrak Daun Salam Seseudah Hidrolisis



Gambar L.7.4 Spektra FTIR ekstrak etanol



Gambar L.7.5 Spektra FTIR ekstrak etil asetat



Gambar L.7.6 Spektra FTIR ekstrak n-heksana

Lampiran 7. Dokumen Penelitian



Serbuk daun salam



Proses ekstraksi ultrasonik



Penyaringan dengan *corong buchner*



Filtrat ekstraksi ultrasonik



Hasil ekstrak daun salam



Hasil ekstrak sesudah hidrolisis



Sampel + larutan DPPH



Hasil positif uji flavonoid



Hasil positif uji saponin



Hasil positif uji tanin



Hasil positif uji alkaloid



Hasil positif uji triterpenoid