

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR, EKSTRAK ETANOL
DAN EKSTRAK METANOL DAUN KEDONDONG (*Spondias dulcis*)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI

**Oleh:
AFAFA AINUR ROSYIDAH
NIM. 16630037**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR, EKSTRAK ETANOL
DAN EKSTRAK METANOL DAUN KEDONDONG (*Spondias dulcis*)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI

**Oleh:
AFAFA AINUR ROSYIDAH
NIM. 16630037**

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

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

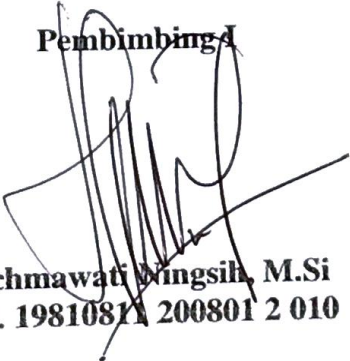
**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR, EKSTRAK ETANOL,
DAN EKSTRAK METANOL DAUN KEDONDONG (*Spondias dulcis*)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI


**Oleh:
AFAFA AINUR ROSYIDAH
NIM. 16630037**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal : 24 Desember 2021**

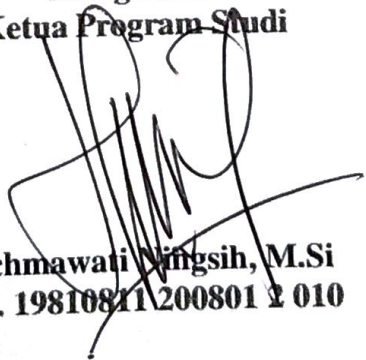
Pembimbing I


**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 198108112008012010**

Pembimbing II


**Okky Bagas Prasetyo, M.Si
NIDT. 198901132011802011244**

**Mengetahui
Ketua Program Studi**


**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 198108112008012010**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR, EKSTRAK ETANOL DAN
EKSTRAK METANOL DAUN KEDONDONG (*Spondias dulcis*) DENGAN
MENGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI

**Oleh:
AFAFA AINUR ROSYIDAH
NIM. 16630037**


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


**Penguji Utama : A. Ghanaim Fasya, M. Si
NIP. 19810811 200604 1 002**

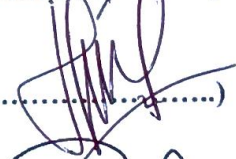
**Ketua Penguji : Lulu'atul Hamidatul Ulya, M. Sc
NIDT. 19900906 20180201 2 239**


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

**Anggota Penguji : Oky Bagas Prasetyo, M.Si
NIDT. 198901132 01180201 1 244**


(.....)


(.....)


(.....)


(.....)

**Mengetahui
Ketua Program Studi**


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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Afafa Ainur Rosyidah
NIM : 16630037
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air, Ekstrak Etanol dan Ekstrak Metanol Daun Kedondong (*Spondias dulcis*) dengan Menggunakan Metode DPPH

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

Malang, 24 Desember 2021

Yang membuat pernyataan,


1271BAJX338133416 Afafa Ainur Rosyidah

NIM. 16630037

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahilahiabbil'alamiin dengan mengucapkan syukur kepada Allah Swt.

Saya persembahkan skripsi ini kepada:

Bapak dan ibu saya M. Syifak dan Ibu Yuyun Kholifah, Bapak dan ibu yang merawat saya Bapak Tahasson dan Ibu Habibah yang menjadi sumber semangat saya dan selalu mendoakan kesuksesan saya.

Aadik saya sekaligus teman (Dita Rofiatis S. dan Azmi Syifak) dan seluruh saudara-saudara, om serta tante, teman-teman Kimia A, dan Bobby yang selalu membantu, menguatkan saya untuk segera menyelesaikan pendidikan S1 ini, dengan harapan untuk kedepannya ilmu yang saya dapat bisa bermanfaat.

Dosen-dosen, dosen wali, dosen pembimbing, dosen penguji dan ustadz ustadzah saya. Saya persembahkan skripsi ini kepada kalian yang telah sabar membimbing, mengarahkan, menasehati, memotifasi serta memberikan ilmunya kepada saya selama ini. Semoga segala yang bapak, ibu, ustadz, ustadzah berikan bisa bermanfaat dan berkah amal jariyah yang tak pernah putus, aamiin.

Sahabat-sahabat saya, Rofioh Stephanie Ningrum, Umi Aniatul Jannah, Cusnul Khotimah dan Ifa Nur Adhimah yang selalu menyemangati, menasehati, menerima segala keluh kesah saya dan saling menyemangati untuk berjuang bersama-sama.

MOTTO

Setiap orang pasti memiliki tantangan yang berbeda, apapun itu hadapi, berusaha yang lebih keras lagi, nikmati prosesnya dan terus berdo'a.

Karena

“Sesungguhnya dalam setiap kesulitan itu pasti ada kemudahan”

(Q.S. Al-Insyirah: 6)

KATA PENGANTAR



Puji syukur kepada Allah Swt. berkat rahmat, hidayah, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air, Ekstrak Etanol dan Ekstrak Metanol Daun Kedondong (*Spondias dulcis*) dengan Menggunakan Metode DPPH.”

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mengerjakan skripsi pada program Strata-1 di Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Karena kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih, kepada:

1. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing skripsi.
2. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Si selaku dosen pembimbing agama.
3. Segenap dosen Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
4. Orang tua, saudara-saudara, atas doa, bimbingan, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini, yang telah memberikan dukungan moril maupun materil.
5. Kakak-kakak tingkat di Laboratorium Organik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

6. Keluarga besar Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Teman-teman seperjuangan di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya. Seluruh sivitas akademika Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.

Kami menyadari skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga akhirnya laporan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut. Amiin.

Malang, 24 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xi
LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
الْبَحْثُ مُلَخَّصٌ	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Daun Kedondong	7
2.1.1 Klasifikasi.....	7
2.1.2 Kandungan Kimia	8
2.1.3 Manfaat.....	8
2.2 Radikal Bebas	9
2.3 Antioksidan.....	9
2.4 Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH.....	10
2.5 Ekstraksi Maserasi Daun Kedondong (<i>Spondias dulcis</i>).....	13
2.6 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak Daun Kedondong (<i>Spondias dulcis</i>)	15
2.7 Uji Fitokimia Daun Kedondong (<i>Spondias dulcis</i>)	16
2.7.1 Flavonoid.....	17
2.7.2 Alkaloid	19
2.7.3 Tanin.....	21
2.6.4 Steroid	22
2.6.5 Terpenoid	23
2.7 Identifikasi senyawa dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	25
2.8 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder menggunakan Spektrofotometer FTIR	26

BAB III METODOLOGI	29
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	29
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	29
3.2.1 Alat	29
3.2.2 Bahan	29
3.3 Tahapan Penelitian	30
3.4 Cara Kerja	30
3.4.1 Penyiapan Sampel	30
3.4.2 Ekstraksi	31
3.4.3 Hidrolisis Senyawa Aktif	31
3.4.4 Analisis Fitokimia	32
3.4.4.1 Uji Flavonoid	32
3.4.4.2 Uji Alkaloid	32
3.4.4.3 Uji Saponin	32
3.4.4.4 Uji Tanin	33
3.4.4.5 Uji Steroid atau Terpenoid	33
3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	33
3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	33
3.4.5.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan	34
3.4.5.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	34
3.4.5.4 Pengukuran EC ₅₀	35
3.4.6 Identifikasi dengan FTIR (Winarti, 2016)	35
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 36
4.1 Preparasi Sampel	36
4.2 Ekstraksi Maserasi Simplisia Daun Kedondong dengan Variasi Pelarut	36
4.3 Hidrolisis	38
4.4 Uji Spektrofotometer UV-Vis	39
4.5 Uji Spektrofotometer FTIR	42
4.6 Uji Fitokimia	46
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	48
4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	48
4.7.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan pada Sampel dengan Metode DPPH	49
4.8 Pemanfaatan Tanaman Kedondong (<i>Spondias dulcis</i>) sebagai Obat dalam Perspektif Islam	51
 BAB V PENUTUP	 55
5.6 Kesimpulan	55
5.7 Saran	55
 DAFTAR PUSTAKA	 57
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 daun kedondong	6
Gambar 2.2 Setruktur Kimia DPPH.....	9
Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan Senyawa Flavonoid	10
Gambar 2.4 Struktur quercetin senyawa flavonoid.....	15
Gambar 2.5 Reaksi flavonoid denagn logam Mg dan HCl	16
Gambar 2.6 Reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff	17
Gambar 2.7 Reaksi alkaloid dengan reagen Mayer	17
Gambar 2.8 Struktur senyawa tanin	18
Gambar 2.9 Dugaan reaksi tanin dengan reagen FeCl ₃	19
Gambar 2.10 Struktur dasar dan turunan steroid	20
Gambar 2.11 Struktur senyawa triterpenoid	21
Gambar 2.12 Alat Spektrofotometer UV-Vis	21
Gambar 2.13 Spektrum FTIR ekstrak etanol daun kedondong hutan.....	23
Gambar 3.1 Rumus % Rendemen	27
Gambar 3.2 Rumus Aktivitas antioksidan	30
Gambar 4.1 Serbuk simplisia daun kedondong.....	36
Gambar 4.2 Filtrat hasil ekstraksi maserasi air (a), etanol 80% (b), metanol 80% (c).....	37
Gambar 4.3 Ekstrak kasar air (a), etanol 80%(b), metanol 80% (c)	37
Gambar 4.4 Hasil hidrolisis ekstrak air (a), etanol 80% (b), metanol 80% (c).....	39
Gambar 4.5 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak etanol daun kedondong sebelum (a) dan sesudah dihidrolisis (b)	40
Gambar 4.6 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak metanol daun kedondong sebelum (a) dan sesudah dihidrolisis (b)	40
Gambar 4.5 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak air daun kedondong sebelum (a) dan sesudah dihidrolisis (b)	41
Gambar 4.11 Spektra FTIR ekstrak etanol 80% sebelum dan sesudah dihidrolisis	42
Gambar 4.12 Spektra FTIR ekstrak metanol 80% sebelum dan sesudah dihidrolisis	44
Gambar 4.13 Spektra FTIR ekstrak air sebelum dan sesudah dihidrolisis	45
Gambar 4.5 Hasil spektra penentuan panjang gelombang DPPH.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Ketentuan kekuatan antioksidan	13
Tabel 2.1 Tabel warna dan warna komplementer	26
Table 4.1 Hasil rendemen ekstrak daun kedondong dari berbagai pelarut	37
Tabel 4.4 Hasil analisis uji spektrofotometer FTIR ekstrak etanol 80% dan ekstrak hidrolisis etanol 80%	42
Tabel 4.5 Hasil analisis uji spektrofotometer FTIR ekstrak metanol 80% dan ekstrak hidrolisis metanol 80%	44
Tabel 4.6 Hasil analisis uji spektrofotometer FTIR ekstrak air dan ekstrak hidrolisis air	45
Table 4.2 Hasil Uji Fitokimia pada Ekstrak Daun Kedondong (<i>Spondias dulcis</i>) sebelum dan sesudah hidrolisis	47
Tabel 4.3 Data hasil % aktivitas antioksidan dan nilai EC ₅₀ dari berbagai hasil hidrolisis pelarut	50
Tabel 4.4 Hasil analisis uji spektrofotometer FTIR ekstrak etanol 80% dan ekstrak hidrolisis etanol 80%	42

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	64
Lampiran 2. Skema Kerja	65
Lampiran 3. Perhitungan.....	71
Lampiran 4. Gambar	87
Lampiran 4. RA.....	90

ABSTRAK

Rosyidah, Afafa Ainur. 2020. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air, Ekstrak Etanol dan Ekstrak Metanol Daun Kedondong (*Spondias dulcis*) dengan Menggunakan Metode DPPH**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing II: Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Si.

Kata Kunci: Daun kedondong (*Spondias dulcis*), Antioksidan, DPPH, FTIR

Kedondong (*Spondias dulcis*) merupakan tanaman iklim tropis seperti Indonesia, pada daunnya tanaman ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun kedondong dan mengetahui gugus fungsi didalamnya. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi maserasi dengan menggunakan variasi pelarut etanol 80%, metanol 80% dan air. Ekstrak akan diuji lanjut fitokimia dan uji antioksidan menggunakan metode DPPH dengan menghitung nilai EC_{50} pada panjang 516 nm menggunakan UV-Vis dan identifikasi gugus fungsi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR.

Hasil uji fitokimia diperoleh senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tannin dan triterpenoid pada ketiga sampel ekstrak etanol, metanol dan air baik setelah dihidrolisis maupun sebelum hidrolisis. Diperkuat dengan hasil identifikasi UV-Vis pada ketiga pelarut sebelum dan sesudah hidrolisis diperoleh λ_{max} 321 nm, 317 nm, 282,9 nm menunjukkan adanya transisi $n-\pi^*$ dan adanya transisi $\pi-\pi^*$ ditunjukkan pada λ_{max} 235 nm, 229 nm, 222,1 nm, 218 nm. Identifikasi senyawa aktif menggunakan FTIR diperoleh gugus fungsi $-OH$ *stretching*, $C=O$ aromatis, $C=C$ *stretching*, $C-H$ *bending*, $C-O-C$ *stretching*, $C-O$ asam (pada pelarut sebelum dihidrolisis), $C-O$ alkoksi dan $C-H$ *bending (out of plane)*. Penelitian ini diperoleh nilai EC_{50} pada ekstrak metanol sebesar 157,8 ppm yang menandakan bahwa sampel daun kedondong dengan ke tiga pelarut tersebut memiliki potensi sumber antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut air dan etanol 80% yang memiliki nilai EC_{50} masing-masing 7044,2 ppm dan 2659 ppm.

ABSTRACT

Rosyidah, Afafa Ainur. 2020. **Antioxidant Activity Test of Water Extract, Ethanol Extract And Methanol Extract Of Kedondong Leaves (*Spondias dulcis*) Using the DPPH Method.** Essay. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: Mrs. Rachmawati Ningsih, M.Si; Advisor II: Mr. Oky Bagas Prasetyo, M.Si.

Keywords: Kedondong leaves (*Spondias dulcis*), Antioxidant, DPPH, FTIR

Kedondong (*Spondias dulcis*) is a tropical climate plant like Indonesia, the leaves of this plant contain secondary metabolite compounds which can be used as medicinal plants. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of kedondong leaf extract and to determine the functional groups in it. The extraction method used is the meseration extraction method using a variety of solvents ethanol 80%, methanol 80% and water. The extract will be carried out further phytochemical and antioxidant tests using the DPPH method by calculating the EC₅₀ value at a length of 517 nm using UV-Vis and identifying functional groups using a FTIR spectrophotometer.

Phytochemical test results from a secondary metabolic compound of flavonoids, tannins and triterpenoids in all three samples of ethanol, methanol and water extracts both after hydrolysis and before hydrolysis. Enhanced by identification of UV-Vis on all three before and after hydrolysis obtained by λ_{\max} 321 nm, 317 nm, 282.9 nm which indicates the existance of n- π^* transition and π - π^* transition shown at λ_{\max} 235 nm, 229 nm, 222, 1 nm, 218 nm. Identification of active compounds using FTIR obtained functional groups -OH stretching, C=O aromatic, C=C stretching, C-H bending, C-O-C stretching, acidic C-O (in solvent before hydrolysis), C-O alkoxy and C-H banding (out of plane). This research obtained the EC₅₀ value of the methanol extract of 157.8 ppm which indicates that the kedondong leaf sample with the three solvents has a higher antioxidant potential than water and 80% ethanol solvents which have EC₅₀ values of 7044,2 ppm and 2659 ppm.

مُلخَصُ البَحْثِ

رَشِيدَة، أَفَافَا عِينُور 2020. اِحْتَبَرِ الشَّاطِطَ المَضَادَّ لِالأَكْسِيدَة لِمُسْتَحْلِصَاتِ المَاءِ وَمُسْتَحْلِصَاتِ الإِبْتَانُولِ وَمَقْتَطَفَاتِ المِيتَانُولِ لِأَوْرَاقِ كِيدُونْدُونج بِاسْتِخْدَامِ طَرِيقَةِ DPPH. الإِقْتِرَاحَةُ. قِسمُ الكِيمِيَاءِ بِكَلِّيَّةِ العُلُومِ وَالتِكْنُولُوجِيَا الجَامِعَةِ الإِسْلَامِيَّةِ الحُكُومِيَّةِ مَوْلَانَا مَالِكِ إِبرَاهِيمِ مَالَانج. المُشْرِفُ الأَوَّل: السَّيِّدَةُ رَحْمَاتِي نَجْسِيه المَاجِسْتِير؛ المُشْرِفُ الثَّانِي: السَّيِّدُ أُوكِي بَاعَاس بَرَايَسِيَتِيَا المَاجِسْتِير

الكَلِمَاتُ الرَّئِيسِيَّةُ: أَوْرَاقُ كِيدُونْدُونج ، مُضَادَاتُ الأَكْسِيدَة ، DPPH, FTIR

أَوْرَاقُ كِيدُونْدُونج هُو نَبَاتٌ مَنَاحِي اسْتَوَائِي مِثْلُ إِنْدُونِيسِيَا، تَحْتَوِي أَوْرَاقُ هَذَا النَبَاتِ عَلَي مُرَكَّبَاتٍ مُسْتَقَلِبٍ ثَانَوِيَّةٍ مُمَكِّنُ اسْتِخْدَامِهَا كَنَبَاتَاتٍ طَبِيَّةٍ. كَانَ الغَرَضُ مِنْ هَذَا البَحْثِ هُو تَحْدِيدُ الشَّاطِطِ المَضَادِّ لِالأَكْسِيدَة لِمُسْتَحْلِصِ أَوْرَاقِ كِيدُونْدُونج وَتَحْدِيدِ المَحْمُوعَاتِ الوُظُفِيَّةِ فِيهِ. طَرِيقَةُ الإِسْتِخْلَاصِ المُسْتَحْدَمَةُ هِيَ طَرِيقَةُ الإِسْتِخْلَاصِ بِالنَّقَعِ بِاسْتِخْدَامِ مَدْيِنَاتٍ مُخْتَلِفَةٍ مِنْ 80٪ إِبْتَانُولِ وَ 80٪ مِيتَانُولِ وَمَاءٍ. سَيِّمُ اِحْتِبَارِ المُسْتَحْلِصَاتِ لِزَيْدٍ مِنَ الإِحْتِبَارَاتِ الكِيمِيَاءِيَّةِ النَّبَاتِيَّةِ وَمُضَادَاتِ الأَكْسِيدَة بِاسْتِخْدَامِ طَرِيقَةِ DPPH عَنِ طَرِيقِ حِسَابِ قِيَمَةِ EC₅₀ بِطُولِ 516 نَانُومِتْرٍ بِاسْتِخْدَامِ UV-Vis وَتَحْدِيدِ المَحْمُوعَاتِ الوُظُفِيَّةِ بِاسْتِخْدَامِ مِقْيَاسِ الطَّيْفِ الصَّوْتِيِّ FTIR

تَمَّ الحُصُولُ عَلَي نَتَائِجِ اِحْتِبَارِ الكِيمِيَاءِ النَّبَاتِيَّةِ المُسْتَقَلِبَاتِ الثَّانَوِيَّةِ فِي شَكْلِ مُرَكَّبَاتِ الفَلَاوُونُويدِ وَالْعَفْصِ وَ تَرِيزَبُونُويدِ فِي العِيَنَاتِ فِي UV-Vis الثَّلَاثِ مِنْ مُسْتَحْلِصَاتِ الإِبْتَانُولِ وَالمِيتَانُولِ وَالمَاءِ بَعْدَ التَحْلِيلِ المَائِي وَقَبْلَ التَحْلِيلِ المَائِي. مُعَزَّزُ بِنَتَائِجِ تَحْدِيدِ المَدْيِنَاتِ الثَّلَاثَةِ قَبْلَ وَبَعْدَ التَحْلِيلِ المَائِي الَّذِي تَمَّ الحُصُولُ عَلَيهِ (بِحَدِّ أَقْصَى 321 نَانُومِتْرٍ ، 317 نَانُومِتْرٍ ، 282.9 نَانُومِتْرٍ يُشِيرُ الإِنْتِقَالَ يُظْهِرُ فِي (كَحَدِّ أَقْصَى 235 نَانُومِتْرٍ ، 229 نَانُومِتْرٍ ، 222.1 نَانُومِتْرٍ ، *π-π وَوُجُودِ *π-π إِلَى وَجُودِ الإِنْتِقَالِ ، -OH ، وَتَمْتَدُّ FTIR 218 نَانُومِتْرٍ تَحْدِيدُ المُرَكَّبَاتِ النَشِطَةِ بِاسْتِخْدَامِ مَحْمُوعَاتِ وَظُفِيَّةِ تَمَّ الحُصُولُ عَلَيهَا بِاسْتِخْدَامِ الحَمِضِي (فِي المُذَيَّبِ قَبْلَ التَحْلِيلِ المَائِي) C-O ، C-O-C الإِنْخِنَاءِ ، تَمْتَدُّ C=H التَمَدُّدِ ، C=C العَطْرِيَّةِ ، C=O لِمُسْتَحْلِصِ المِيتَانُولِ البَالِغِ EC₅₀ النُّطَاقَاتِ (حَارِجِ المُسْتَوَى). حَصَلَتْ هَذَا البَحْثِ عَلَي قِيَمِ C-H الكُوكِيسِي وَ C-O مِمَّا يُشِيرُ إِلَى أَنَّ عِيَنَةَ أَوْرَاقِ كِيدُونْدُونج مَعَ المُدْيِنَاتِ الثَّلَاثَةِ لَدَيْهَا 2659 جُزْءٌ فِي المِيلْيُونِ وَمُسْتَحْلِصِ الإِبْتَانُولِ 157,8 ppm حَيْثُ لَمْ يَتَمَّ الحُصُولُ عَلَي مُرَكَّبَاتِ مُضَادَاتِ الأَكْسِيدَة. 70442 مَصَدَّرٌ مُحْتَمَلٌ عَلَي مُضَادَاتِ الأَكْسِيدَة. ،

BAB I

PENDAHULUAN

5.1 Latar Belakang

Daun kedondong memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan. Khasiat daun kedondong yakni dapat mengobati borok, kulit perih, luka bakar, disentri, batuk dan sebagai antioksidan dalam tubuh. Hal tersebut dikarenakan pada daun kedondong mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tannin yang berkhasiat untuk antihistamin, antioksidan, antivirus, antibakteri, anti inflamasi, sampai anti kanker (Harmanto, 2002). Namun pemilihan tanaman daun kedondong berkhasiat sebagai obat didasarkan pada pengalaman masyarakat secara turun temurun, yang mana keamanan dan keakuratan daun kedondong sebagai obat belum banyak diketahui (Aulia, 2017).

Allah SWT. berfirman dalam surat Al-Baqoroh (2) ayat 22:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ فِرَاشًا وَالسَّمَاءَ بِنَاءً وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ مِنَ الثَّمَرَاتِ رِزْقًا لَكُمْ ۗ فَلَا تَجْعَلُوا لِلَّهِ أُنْدَادًا وَأَنْتُمْ تَعْلَمُونَ ﴿٢٢﴾

Artinya: Dialah yang menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu dan langit sebagai atap, dan Dia menurunkan air (hujan) dari langit, lalu Dia menghasilkan dengan hujan itu segala buah-buahan sebagai rezeki untukmu; karena itu janganlah kamu mengadakan sekutu-sekutu bagi Allah, padahal kamu mengetahui. (Q.S. Al-baqarah (2):22)

Shihab (2002) menyatakan bahwa yang dimaksud dengan *الْثَّمَرَاتِ رِزْقًا*

(*tsamaraati rizqa*) pada surah Al-Baqarah ayat 22 yaitu pepohonan yang berbuah

dan dapat diambil manfaatnya. Dari ayat tersebut dapat diketahui bahwa Allah SWT.menciptakan segala sesuatu dengan berbagai manfaat. Sebagaimana pada tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan.

Penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa daun kedondong memiliki kandungan senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan berupa flavonoid 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 dua golongan polifenol yang berperan sebagai antioksidan (Dungir, dkk., 2012; Sie, 2013). Ekstrak daun kedondong mengandung senyawa antioksidan pada dosis 75 mg dengan aktivitas antioksidan sebesar 20,98 ppm (Harjanti, 2012).

Selain itu, pada penelitian Azizah (2019) dilakukan screening fitokimia ekstrak daun kedondong. Berdasarkan uji fitokimia diperoleh hasil bahwa ekstrak daun kedondong memiliki kandungan flavonoid, tanin, terpenoid/steroid dan saponin. Berdasarkan penelitian Dewi (2017) daun kedondong yang digunakan adalah daun segar berwarna hijau tua dan diperoleh kandungan flavonoid 0,67%. Dimana pada penelitian ini dibuktikan bahwa melalui mekanisme antioksidan dapat menurunkan kadar kolesterol LDL dalam darah tikus coba. Penelitian ini diperoleh penurunan kadar kolesterol total pada kelompok yang diberi teh daun kedondong (*Spondias dulcis*) (perlakuan), dengan ditunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol total sebanyak 26,2% selama 9 hari.

Senyawa antioksidan pada daun kedondong (*Spondias dulcis*) dapat ditentukan dengan metode ekstraksi maserasi. Dalam proses ekstraksi suatu sampel tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi yaitu jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi, dan suhu yang digunakan untuk mengekstraksi (Sie, 2013). Sehingga penting untuk pemilihan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yakni air, etanol 80% dan metanol 80%. Penggunaan etanol 80% dan metanol 80% bertujuan untuk menarik semua komponen di dalam serbuk simplisia, karena pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut non polar hingga polar, sedangkan pelarut metanol 80% merupakan pelarut polar yang cocok digunakan dalam ekstraksi senyawa organik.

Penelitian sebelumnya (Supriyanto, dkk., 2012) digunakan sampel ekstrak daun mimbar. Penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut metanol 80% pada ekstraksi uji antioksidan lebih efisien dibandingkan dengan menggunakan pelarut air, etanol 60%, etanol 80% dan metanol 60%. Hasil ekstrak dari ekstraksi ini diuji daya antioksidannya menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan parameter uji menggunakan perbandingan nilai IC_{50} pada setiap sampel. Hasil IC_{50} yang diperoleh pada pelarut metanol 80% 83,2796 ppm; metanol 60% 87,5173 ppm; air 90,3922 ppm; etanol 60% 88,6988 ppm dan etanol 80% 88,1273 ppm. Dimana semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas antioksidan semakin tinggi.

Berdasarkan journal Azizah (2019) metode ini sangat efektif dibandingkan metode lainnya. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. Penelitian ini menyebutkan serbuk simplisia daun kedondong diekstraksi dengan metode

maserasi. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 70%. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.F.) (Kurz) dengan metode peredaman radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidazil) dan metode ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethyl-benzo-thiazoline-6-sulphonic acid) memberikan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 32,83 $\mu\text{g/mL}$ dan 45,84 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan aktivitas antioksidan dalam mereduksi besi sebesar 2936,7 $\mu\text{mol/g}$ sampel.

Berdasarkan latar belakang di atas penelitian ini digunakan sampel daun kedondong (*Spondias dulcis*) dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 80%, metanol 80% dan air. Hasil ekstraksi tersebut kemudian diuji daya antioksidannya menggunakan metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrihidazil) dengan menghitung nilai IC_{50} yang diperoleh pada panjang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan identifikasi gugus fungsi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR.

5.2 Rumusan Masalah

Ditinjau dari latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut

1. Bagaiman pengaruh pelarut air, etanol 80% dan metanol 80% terhadap hasil rendemen ekstraksi maserasi ekstrak daun kedondong?
2. Berdasarkan uji fitokimia apa saja senyawa aktif yang terkandung dalam daun kedondong?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan dari daun kedondong dengan metode DPPH?
4. Berdasarkan uji FTIR, gugus fungsi apa saja yang terkandung dalam ekstrak daun kedondong?

5.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pelarut air, etanol 80% dan metanol 80% terhadap hasil rendemen ekstraksi maserasi ekstrak daun kedondong.
2. Menentukan senyawa aktif yang terkandung dalam daun kedondong pada uji fitokimia.
3. Menentukan aktivitas antioksidan dari daun kedondong dengan metode DPPH.
4. Mengetahui gugus fungsi pada ekstrak daun kedondong dengan menggunakan spektrofotometer FTIR.

5.4 Batasan Masalah

Penelitian ini digunakan daun kedondong yang berumur sedang (tidak tua dan tidak terlalu muda). Daun yang digunakan merupakan tanaman kedondong dari daerah kabupaten Jombang, Jawa Timur, Indonesia.

5.5 Manfaat

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberi pengetahuan tentang kandungan metabolit sekunder, kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan berbagai fraksi dari ekstrak daun kedondong kepada masyarakat. Sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan dan untuk manfaat lainnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Kedondong

Kedondong merupakan tanaman buah yang banyak dijumpai di seluruh daerah tropis. Tanaman ini termasuk anggota Angiospermae. Tanaman ini berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara dan tersebar di daerah tropis (Prihatman, 2004). Tanaman ini tumbuh dengan cepat, tingginya dapat mencapai 18 m (Morton, 1987). Daun kedondong berbentuk jorong (ovalis), pangkal daun runcing (acutus), ujung daun meruncing (acuminatus), warna hijau, panjang daun lebih kurang 5-8 cm, lebar daun lebih kurang 3-6 cm, tulang daun menyirip, jumlah anak daun gasal dan berpasang-pasangan, tepi daun rata, tata letak daun tersebar (folia sparsa), permukaan daun licin (leavis) dan mengkilat (nitidus) (Harjanti, 2012). Daun kedondong mudah berganti sehingga mudah rontok di musim kemarau (Morton, 1987).



Gambar 2.1 daun kedondong

2.1.1 Klasifikasi

Adapun klasifikasi tanaman kedondong menurut Putri tahun 2012 adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Kelas	: Dicotyledonae
Subclass	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Anacardiaceae
Genus	: Spondias
Spesies	: <i>Spondias dulcis</i>

2.1.2 Kandungan Kimia

Daun kedondong (*S. dulcis*) mempunyai kandungan senyawa, flavonoid, saponin, alkaloid, vitamin C dan tanin. Flavonoid pada daun kedondong merupakan senyawa polifenol. Sumber terbesar polifenol dan vitamin C yaitu terdapat pada bagian daun (Dewi, dkk., 2017). Menurut Mamahit dkk (2010), zat flavonoid merupakan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan, yang memiliki kegunaan untuk mengobati penyakit kolesterol, sakit ginjal, dan maag. Namun masyarakat belum banyak yang mengetahui manfaat kandungan daun kedondong tersebut.

2.1.3 Manfaat

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun kedondong mempunyai kandungan senyawa-senyawa yang termasuk ke dalam golongan antioksidan dan asam lemak tak jenuh ganda yang berperan penting dalam penurunan kadar kolesterol total pada tikus putih (Dewi, dkk., 2017). Menurut Kamal (2018) senyawa seperti alkaloid, tanin, dan saponin pada daun yang dapat bersifat sebagai larvasida, dimana ekstrak murni polar daun kedondong dapat mematikan larva instar III *Cx. quinquefasciatus*. Selain itu berdasarkan uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan menunjukkan bahwa daun kedondong memiliki kemampuan untuk menghambat fungsi membran sel bakteri (Balqis, dkk., 2014).

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih atom tak berpasangan. Meskipun suatu radikal tidak bermuatan positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Suatu radikal bebas dijumpai sebagai zat antara yang tak dapat diisolasi usia pendek karena sangat reaktif dan berenergi tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1997). Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan bila tidak dapat dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Latifah, 2015). Radikal bebas dapat ditangkal dengan pemberian antioksidan atau dengan mengkonsumsi antioksidan (Halliwell, 2007).

2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron atau reduktor. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tapi mampu menginaktifkan perkembangan reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsih, 2007).

Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi, dkk., 1996). Antioksidan alami digolongkan menjadi enzim dan vitamin. Antioksidan berupa

enzim yang dihasilkan oleh tubuh berupa superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase, dan katalase. Sedangkan vitamin di dapatkan dari bahan makanan yang berupa buah dan sayur, misalnya alfatokoferol (vitamin E), beta karoten (vitamin A), dan asam askorbat (vitamin C). Anti-oksidan alami yang berasal dari tumbuhan, pada umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional (asam organik dengan dua atau lebih gugus fungsional).

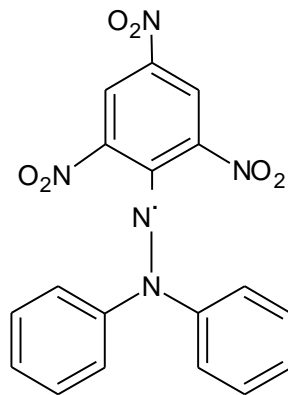
Antioksidan sintesis *butylate hydroxyanisole* (BHA), *butylate hydroxytoluene* (BHT), *propyl gallate* (PG) dan *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Penelitian Fitri (2014) menyatakan penggunaan BHA dalam makanan juga mempunyai pro dan kontra. Ketika sebuah penelitian menunjukkan bahwa penggunaan BHA mempunyai keuntungan, beberapa penelitian lainnya tidak menunjukkan adanya keuntungan, atau bahkan memberikan dampak negatif pada penggunaannya. Asupan Harian yang Diiijinkan (Acceptable Daily Intake (ADI)) sebesar 0-0,5 mg/kg bb adalah salah satu cara untuk membatasi penggunaan BHA supaya tidak memberikan dampak yang buruk bagi kesehatan.

2.4 Aktivitas Antioksidan Menggunakan 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

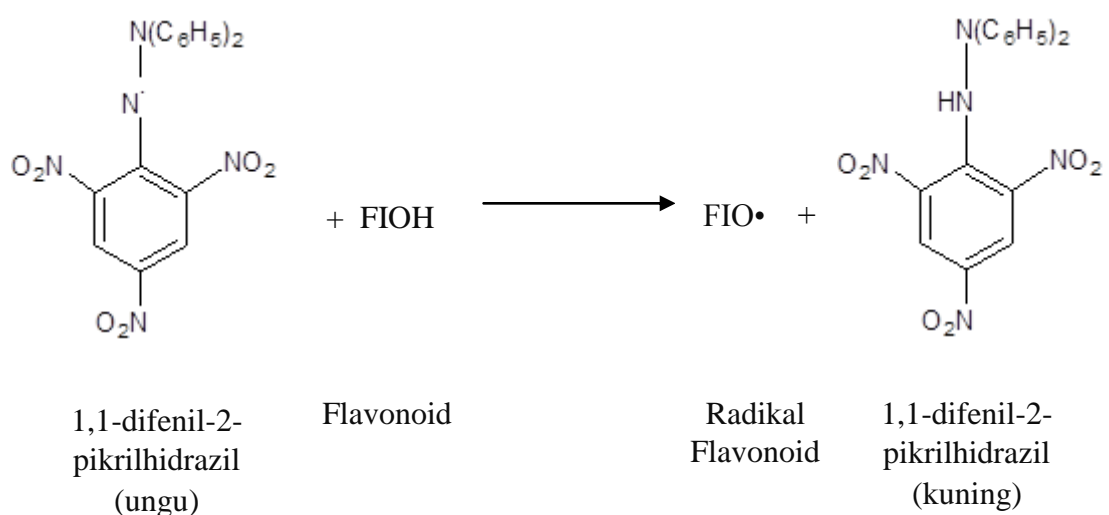
ditambahkan larutan DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrail) (Dungir, dkk., 2012).

Struktur kimia reagen DPPH antara lain sebagai berikut :



Gambar 2.2 Setruktur Kimia 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. (Tristanti, dkk., 2016).



Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan Senyawa Flavonoid (Amic, 2003)

Kadar aktivitas antioksidannya dapat dihitung dengan rumus (Tristanti, dkk., 2016):

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{Y_{\text{kontrol}} - Y_{\text{sampel}}}{Y_{\text{kontrol}}} \times 100\% \quad \dots(2.4)$$

Keterangan:

Y = absorbansi (Sulistyani, dkk., 2011)

Proses penangkalan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan adalah DPPH, senyawa ini bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Keberadaan sebuah antioksidan dapat menyumbangkan elektron (H) kepada DPPH, menghasilkan warna kuning yang merupakan ciri spesifik dari reaksi radikal DPPH. Senyawa yang memiliki kemampuan penangkal radikal bebas umumnya merupakan pendonor atom hidrogen (H), sehingga atom hidrogen (H) tersebut dapat ditangkap oleh radikal DPPH untuk berubah menjadi bentuk netralnya (Kiay, dkk., 2011).

Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH dapat diketahui dengan menggunakan nilai EC_{50} (*Efficient Concentration*) atau IC_{50} (*Inhibitor Concentration*). EC_{50} dan IC_{50} yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai EC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik ketentuan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.1 (Brand, Williams, 1995):

Tabel 2.1 Ketentuan kekuatan antioksidan

Nilai EC ₅₀ (ppm)	Kategori
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
150-200	Lemah
>200	Sangat lemah

2.5 Ekstraksi Maserasi Daun Kedondong (*Spondias dulcis*)

Ekstraksi adalah peristiwa proses pemisahan suatu atau beberapa zat dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut (Mudjahid, 2011). Ekstraksi digunakan untuk menarik senyawa aktif yang dikehendaki (Sudjadi, 1988). Ekstraksi dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu fase air (*aquos phase*) yang menggunakan air sebagai pelarut dan fase organik (*organic phase*) yang menggunakan pelarut organik seperti eter, kloroform, metanol, dan sebagainya. Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi menggunakan pelarut etanol menggunakan metode maserasi (Winarno, dkk., 1973).

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun kedondong ini adalah etanol, metanol dan air. Larutan tersebut dapat melarutkan flavonoid pada daun kedondong, yang mana senyawa flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan gugus hidroksil sehingga cenderung bersifat polar dan membutuhkan pelarut yang bersifat polar (Markham, 1988; Gillespie dan Paul, 2001). Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip like dissolve like yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama. Pelarut yang bersifat polar diantaranya adalah etanol, metanol, aseton dan air (Sudarmadji, dkk., 1997). Etanol, metanol dan air merupakan pelarut universal sehingga baik senyawa polar maupun nonpolar dapat tertarik ke dalam pelarut tersebut (Snyder, dkk., 1997;

Verdiana, dkk, 2018). Pelarut etanol memiliki gugus hidroksil (-OH) yang merupakan gugus yang sangat polar dan juga memiliki gugus etil (C₂H₅) yang merupakan senyawa non-polar (Schiller, 2010). Gugus hidroksil (-OH) yang dimiliki oleh etanol merupakan gugus yang sangat polar karena elektronegatif dari oksigen tinggi yang memungkinkan ikatan hidrogen bertukar tempat dengan molekul lain (Gani, dkk., 2013).

Semakin halus suatu bahan simplisia, proses ekstraksi akan berjalan lebih efektif. Hal ini disebabkan pelarut akan semakin mudah mengekstrak senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia jika bentuk simplisia semakin halus (Perwita, 2011). Suatu senyawa menunjukkan kelarutan yang berbeda-beda dalam pelarut yang berbeda (Harborne, 1987). Hal-hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, toksisitas, kemampuan untuk mengekstrak, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Harborne, 1987).

Maserasi dilakukan hanya dengan merendam sampel dalam suatu pelarut dengan waktu tertentu, biasanya dilakukan selama 24 jam tanpa menggunakan pemanas. Kelebihan metode ini adalah sederhana, tidak memerlukan alat-alat yang rumit, relatif murah, dan kerusakan komponen dapat dihindari karena tidak menggunakan panas sehingga baik untuk sampel yang tidak tahan panas. Akan tetapi, teknik maserasi juga mempunyai kelemahan yaitu penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien karena jumlah pelarut yang digunakan relatif banyak dan membutuhkan waktu yang lama (Wulandari, 2005).

Penelitian mengenai penggunaan ekstraksi maserasi pada berbagai sampel daun dapat dilihat dari penelitian sebelumnya oleh Supriyanto, dkk., (2017) pada penelitian ini digunakan Daun Mimbar dengan Pelarut etanol 60%, etanol 80%,

metanol 60%, dan methanol 80% menghasilkan masing-masing IC_{50} sebesar 88,6988; 88,1273; 87,5173 dan 83,2796 mg/mL.

Penelitian lain digunakan serbuk simplisia daun kedondong diekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 70%. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.F.) (Kurz) dengan metode peredaman radikal DPPH dan metode ABTS memberikan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 32,83 $\mu\text{g/mL}$ dan 45,84 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan aktivitas antioksidan dalam mereduksi besi sebesar 2936,7 $\mu\text{mol/g}$ sampel (Azizah, 2019).

Rivai, dkk., (2010) menyatakan bahwa penelitian menggunakan daun dewa dengan menggunakan pelarut etanol dan sampel berupa tumbuhan segar atau yang telah dikeringkan selama 7 hari dalam 25°C, 9 jam dalam 40°C, 3,5 jam dalam oven 60°C dan 5 menit dalam microwave. Didapatkan masing-masing IC_{50} sebesar 3,141; 3,042; 3,311; 2,991 dan 3,345 mcg/ml.

Berdasarkan data yang diperoleh di atas menunjukkan bahwa ekstraksi maserasi dipengaruhi oleh beberapa faktor untuk mendapatkan hasil yang optimum, yaitu variasi lama ekstraksi, suhu dan variasi pelarut. Hasil optimum terdapat pada penggunaan pelarut etanol. Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan variasi pelarut untuk mendapatkan hasil yang lebih optimum lagi. Adapun variasi pelarut yang digunakan yaitu pelarut air, metanol 80% dan etanol 80%.

2.6 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak Daun Kedondong (*Spondias dulcis*)

Hidrolisis adalah proses dekomposisi kimia dengan menggunakan pelarut untuk memecahkan ikatan kimia dari substansinya. Prinsip hidrolisis asam adalah peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifudin, dkk., 2006). Pemilihan asam kuat seperti HCl sebagai katalis disebabkan karena asam kuat akan lebih mudah melepas proton (H^+) secara sempurna di dalam air, sedangkan asam lemah relatif lebih sukar sehingga asam lemah memiliki kecenderungan terionisasi sebagian dalam pelepasan ion H^+ . Semakin banyak proton yang terionisasi dalam air, maka semakin kuat peranan proton dalam pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006). Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida.

Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar dan non polar (senyawa metabolit sekunder) (Gunawan, 2004). Suatu senyawa apabila mempunyai banyak ikatan glikosida maka senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar. Pada proses ekstraksi, senyawa metabolit sekunder akan lebih terekstrak pada pelarut yang bersifat polar, senyawa bekerja kurang spesifik karena terikat dengan gugus gula dan pada proses pemisahan senyawa dengan KLT akan cenderung tertahan pada fase diamnya (Saifudin, dkk., 2006).

2.7 Uji Fitokimia Daun Kedondong (*Spondias dulcis*)

Skining fitokimia merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum nampak melalui suatu tes atau pemeriksaan yang dapat dengan cepat

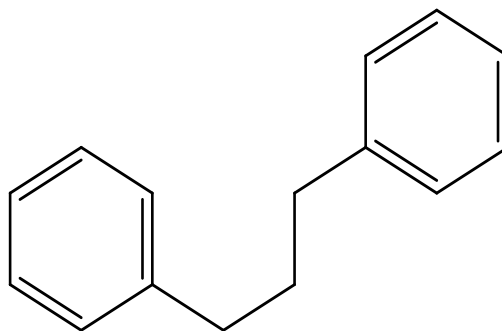
memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia tertentu. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Kristianti., *et al*, 2008). Skrining fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaan kandungan senyawa alkaloid, flavonoida, terpenoida/steroida, tanin dan saponin menurut prosedur yang telah dilakukan oleh Harbone (1987) dan Depkes (1995).

2.7.1 Flavonoid

Flavonoid digunakan pertama kali oleh Geissman dan Hinreiner sekitar 32 tahun yang lalu, yaitu untuk menamakan golongan senyawa yang mempunyai struktur kerangka dasar C₆ – C₃ – C₆. Setiap bagian C₆ merupakan cincin benzena yang dihubungkan dengan tiga atom karbon (C₃) yang merupakan rantai alifatik yang dapat pula membentuk cincin ketiga. Ketiga cincin tersebut diberi tanda A, B, dan C untuk memudahkan dalam pembahasan. Atom karbon dinomori menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C serta angka beraksen untuk cincin B (Hahlbrock K, 1981). Flavonoid adalah substansi yang mengandung senyawa polifenolik yang berasal dari tumbuhan (herbal). Flavonoid merupakan antioksidan yang potensial untuk menangkal radikal bebas. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan yang kuat

sehingga dimanfaatkan sebagai pencegah kanker maupun pengobatan kanker (Miryanti, dkk., 2011).

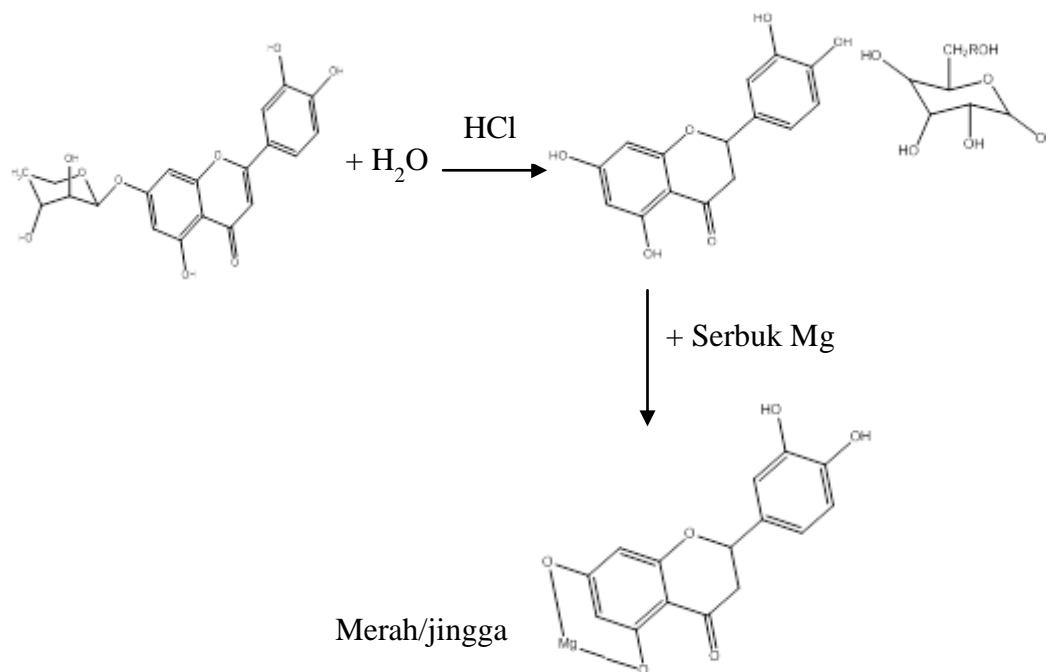
Azizah, dkk., (2019) melakukan uji fitokimia pada ekstrak daun kedondong hutan (*Spondias duclis*) dengan diekstrak menggunakan etanol 70%. Hasil ekstrak yang diperoleh positif terkandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Struktur quercetin senyawa flavonoid ditunjukkan oleh Gambar 2.2 sebagai berikut:



**Gambar 2.4 Struktur quercetin senyawa flavonoid
(Kristianti, dkk., 2008)**

Uji fitokimia flavonoid dapat dilakukan dengan metode Wilstater yaitu dengan melarutkan sejumlah ekstrak dengan metanol panas, dan ditambahkan dengan HCl pekat dan serbuk magnesium. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah sampai jingga menandakan senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol dan falvonon, warna hijau sampai warna biru

diberikan oleh aglikon atau glikosida (Kristianti., *et al*, 2008). Gambar 2.3 menunjukkan reaksi senyawa flavonoid dengan Mg-HCl (Kristianti, dkk., 2008).



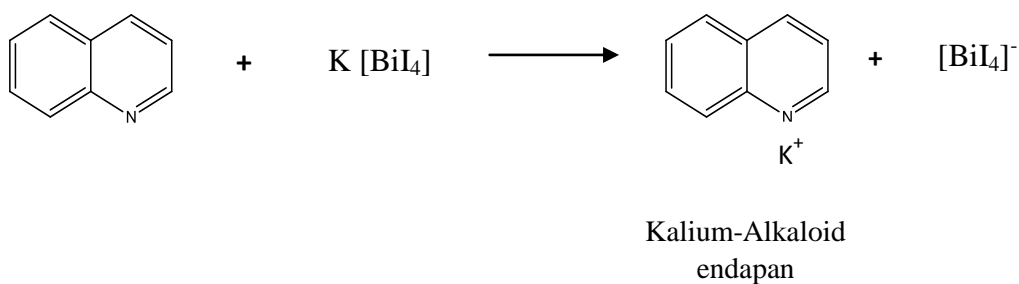
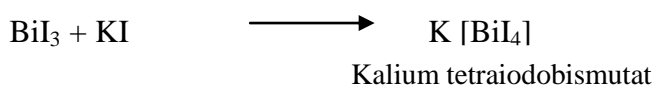
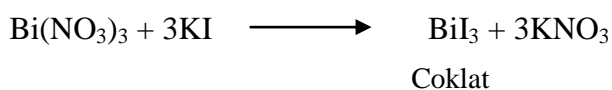
**Gambar 2.5 Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl
(Kristianti, dkk., 2008)**

2.7.2 Alkaloid

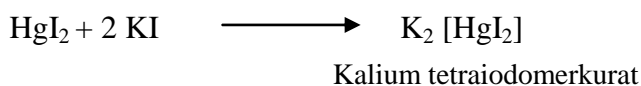
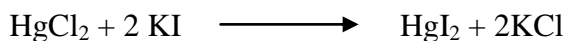
Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen (N), yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan, terutama angiosperm. Alkaloid pada tanaman berfungsi sebagai racun yang dapat melindunginya dari serangga dan herbivora, faktor pengatur pertumbuhan, dan senyawa simpanan yang mampu menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan tanaman (Wink, 2008).

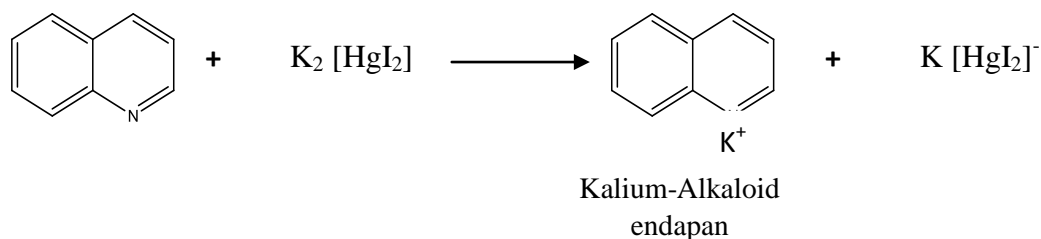
Uji fitokimia senyawa alkaloid direaksikan dengan pereaksi Dragendroff dan Meyer. Menurut penelitian Inayati (2008) uji fitokimia pada ekstrak metanol daun kedondong positif mengandung senyawa alkaloid, yang ditandai dengan

adanya endapan merah pada pereaksi Dragendorff dan endapan putih pada pereaksi Meyer. Senyawa alkaloid bereaksi dengan pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) menghasilkan endapan jingga hingga merah kecokelatan. Pada reaksi ini terjadi penggantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kaliumalkaloid yang mengendap (Haryati, dkk., 2015). Adapun reaksi kimia yang terjadi dapat dilihat pada Gambar berikut (uji positif):



**Gambar 2.6 Reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff
(Ergina, dkk., 2014)**

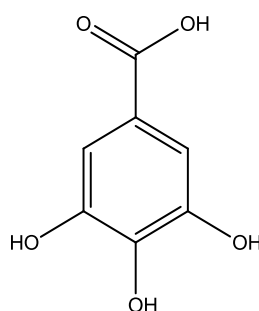




Gambar 2.7 Reaksi alkaloid dengan reagen Mayer (Ergina, dkk., 2014)

2.7.3 Tanin

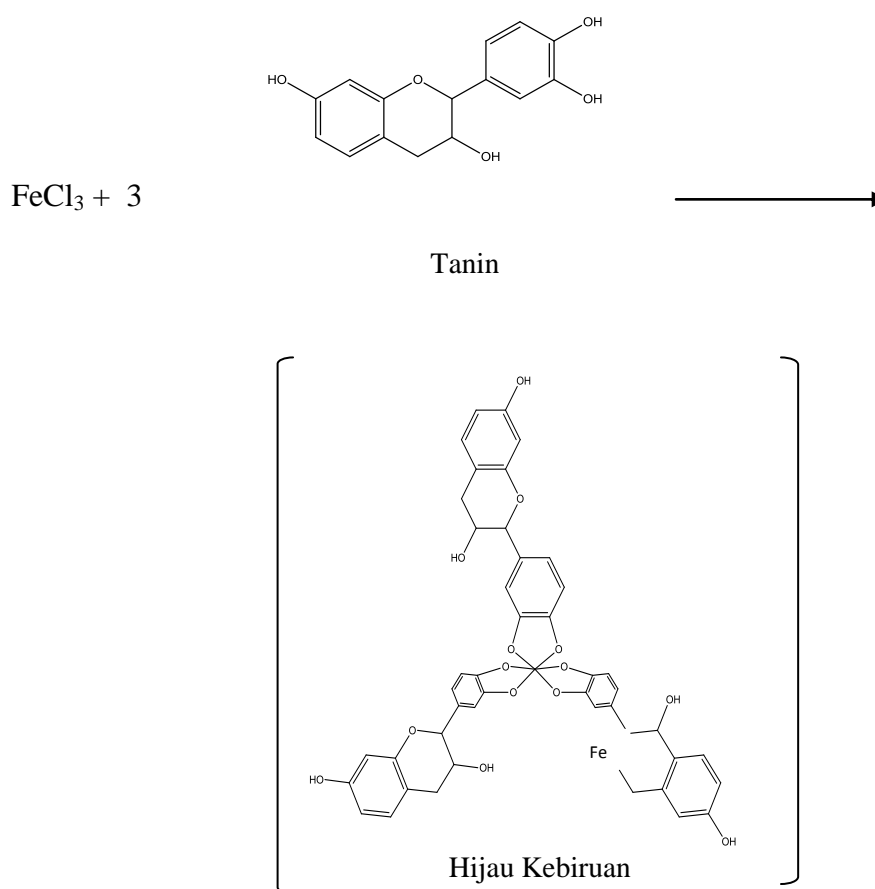
Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi di kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tannin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harborne, 1987). Adapun bentuk struktur senyawa tanin terdapat pada Gambar 2.6 berikut :



Gambar 2.8 Struktur senyawa tanin (Robinson, 1995)

Uji tanin dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak sampel kedalam metanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan

FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruani atau hijau (Sangi et al., 2008). Inayati (2008) melakukan uji fitokimia terhadap ekstrak daun kedondong (*Spondias dulcis*) dengan menggunakan pelarut metanol. Hasil penelitian ini terdapat senyawa tanin pada daun kedondong yang ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hitam kehijauan setelah penambahan FeCl_3 .

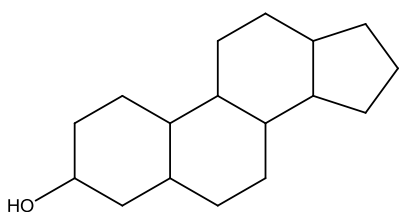


**Gambar 2.9 Dugaan reaksi tanin dengan reagen FeCl_3
(Inayati, 2008)**

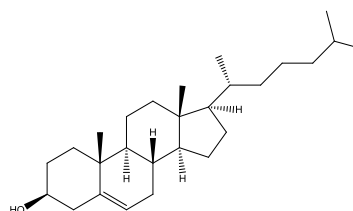
2.6.4 Steroid

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula

pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne, 1987). Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena yang memiliki inti dengan cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin silopentana yang bergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (Poedjadi, 1994).



Struktur dasar steroid



Kolesterol

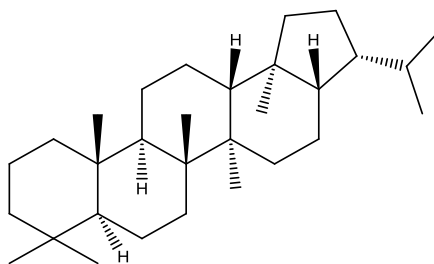
Gambar 2.10 Struktur dasar dan turunan steroid (Poedjadi, 1994)

Menurut Simes et al. (Sangi et al, 2008) saponin dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak sampel daun sebanyak 1 gram ke dalam tabung reaksi, " kemudian ditambahkan akuades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

2.6.5 Terpenoid

Terpenoid merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan yang disebut minyak atsiri. Minyak atsiri yang berasal dari tumbuhan pada awalnya dikenal dari

penentuan struktur secara sederhana, yaitu dengan perbandingan atom hidrogen dan atom karbon dari senyawa terpenoid yaitu 8:5 dan dengan perbandingan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid. Terpen 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 CS ini. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskuterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap, dan triterpen dan sterol yang tidak menguap. Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan petroleum eter atau kloroform. Steroid merupakan senyawa triterpen yang terdapat dalam bentuk glikosida (Harborne, 1987).



Gambar 2.11 Struktur senyawa triterpenoid (Kristanti, dkk., 2008)

Uji triterpenoid dilakukan dengan cara melarutan uji sebanyak 2 mL diuapkan. Residu yang diperoleh dilarutkan dalam 0.5 mL kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya, campuran ini ditetesi dengan 2 ml. asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecokelatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, menunjukkan adanya triterpenoid (Jones and Kinghorn, 2006; Evans, 2009).

2.7 Identifikasi senyawa dengan Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 2.12 Alat Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200 - 400 nm) atau daerah sinar tampak (400 – 800 nm). Berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap (Rohman, 2007). Analisis ini dapat menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa (Sastromidjojo, 2007).

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). Azizah, dkk., (2019) melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kedondong hutan (*Spondias duclis*) dengan metode peredaman radikal DPPH. Hasil penelitian ini berdasarkan hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm. Hilangnya warna ungu adalah

stoikiometri jumlah elektron yang disumbangkan oleh senyawa antioksidan daun kedondong hutan.

Tabel 2.1 Tabel warna dan warna komplementer (Sastrohamidjojo, 2007)

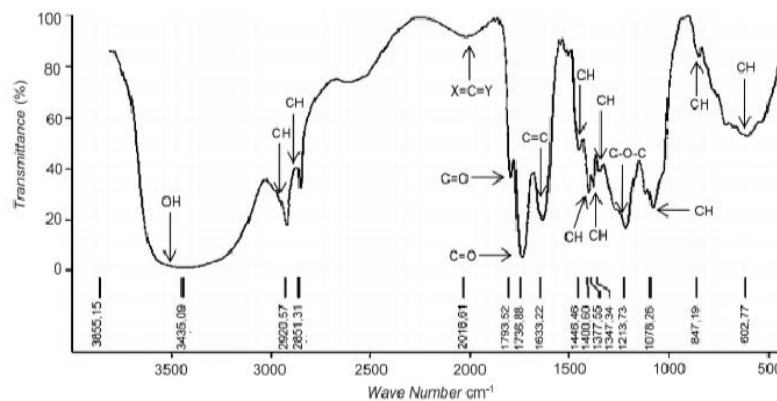
Panjang Gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400 – 415	Violet (ungu)	Hijau Kekuningan
450 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu Kemerahan
560 – 580	Hijau kekuningan	Ungu
580 – 595	Jingga	Biru Kehijauan
595 – 610	Merah	Hijau Kebiruan
610 – 750	Ungu Kemerahan	Hijau

2.8 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder menggunakan

Spektrofotometer FTIR

Spektroskopi inframerah adalah sebuah metode analisis instrumentasi pada senyawa kimia berdasarkan interaksi radiasi sinar inframerah dengan molekul sehingga menyebabkan vibrasi molekul. Spektrofotometer inframerah digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi dan menganalisis senyawa campuran organik maupun anorganik (Underwood, 1986). Prinsip kerja FTIR adalah mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa yang diamati. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sankari, 2010). Daerah serapan radiasi inframerah berkisar antara bilangan gelombang 650-4000 cm^{-1} .

Penelitian ini menggunakan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi dan dugaan senyawa pada ekstrak daun kedondong. Penelitian Asnani, dkk., (2017), diperoleh interpretasi gugus fungsi pada sampel ekstrak daun kedondong hutan (*Spondias pinnata*) berupa gugus O-H, C-H, X=C=Y, C=O, C=C, dan C-O-C. Spektrum FTIR kedondong hutan tersebut mengindikasikan keberadaan berbagai jenis senyawa diantaranya senyawa alkohol, senyawa fenol yang kemungkinan berupa flavonoid dan tannin, steroid, asam karboksilat, dan senyawa-senyawa dengan gugus aromatik.



Gambar 2.13 Spektrum FTIR ekstrak etanol daun kedondong hutan

Hasil spektra ekstrak etanol daun kedondong hutan tersebut, keberadaan senyawa 24-metilen sikloartenol kemungkinan ditunjukkan oleh serapan pada $1736,88-1793,52\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan keberadaan gugus fungsi C-O pada struktur siklik 6 karbon, serapan pada $1633,19\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan keberadaan gugus C-C pada steroid. Selain itu, kemungkinan keberadaan senyawa asam lignoserat terlihat pada serapan $1736,88\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus C-O, serapan pada $2920,57$ dan $2851,31$ adalah gugus CH₂ dan CH₃, serta serapan pada $1736,88$; $1446,46$; $1377,55$; $1347,34$; dan $02.77-847,19\text{ cm}^{-1}$ merupakan gugus fungsi C-H (Asnani dkk., 2017).

Spektrum FTIR senyawa asam galat dan metil galat pada penelitian ini kemungkinan berada pada Serapan $3435,09\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan gugus fungsi O-H, hal tersebut terikat pada cincin fenol. Selain itu pada serapan $1633,19\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan keberadaan gugus alkena pada gugus fenol, serapan pada 1693 dan 1698 cm^{-1} yang menunjukkan keberadaan gugus fungsi keton dari senyawa-senyawa turunan fenol, sedangkan serapan pada kisaran $1213,7314446,46$ menunjukkan keberadaan gugus fungsi eter dan gugus C-H senyawa fenol (Asnani dkk., 2017).

Arif, dkk., (2016), telah mengisolasi senyawa propanetrikarboksilat diglukosida pada buah *S. mangifera* (*S. pinnata*) dengan serapan IR pada 3426 , 2925 , 1752 , 1628 , 1485 , 1086 , 772 cm^{-1} . Pada spektra ekstrak etanol daun kedondong hutan pada penelitian ini keberadaan senyawa tersebut kemungkinan ditunjukkan dengan serapan IR pada $3435,09\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan keberadaan gugus fungsi O-H dari struktur polimernya, serapan pada $2920,57\text{ cm}^{-1}$ merupakan

gugus C-H yang banyak pada senyawa tersebut. Pita serapan gugus karbonil terjadi pada $1736,88\text{ cm}^{-1}$ untuk ester (pada struktur glikosida) dan $1633-22\text{ cm}^{-1}$ pada struktur asam karboksilat, serapan $1446,46\text{ cm}^{-1}$ (gugus C-O) yang menunjukkan adanya kelompok piranosil dalam senyawa, dan serapan pada $1078,26\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan glikosidik serta serapan 847.19 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H rantai alifatiknya (Asnani, dkk., 2017). Perbedaan daerah serapan dapat di sebabkan karena analisis FTIR pada penelitian Asnani, dkk., (2017) dilakukan menggunakan ekstrak etanol, sedangkan pada penelitian Arif, dkk., (2016) menggunakan senyawa yang telah mengalami tahap pemurnian.

BAB III

METODOLOGI

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan September - Oktober 2020.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Penelitian ini menggunakan pelalatan seperangkat alat gelas seperti gelas ukur, botol vial, erlenmeyer, erlemeyer vakum, corong vakum, cawan penguap, pipet ukur, pipet tetes, bola hisap, batang pengaduk, corong glass, beaker glass, labu ukur, kertas saring, *alumunium foil* dan tabung reaksi. Alat lain yang digunakan seperti neraca analitik, oven, *vacuum Buchner* dan *rotary evaporator*. Identifikasi senyawa menggunakan instrumentasi UV-Vis (Varian Carry 50) dan FTIR (*Merk Varian 1000 FTIR Scimitar Series*).

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan adalah daun kedondong (*Spondias dulcis*). Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%, metanol 80%, dan aquades. Bahan lainnya yaitu HCl 2N, natrium bikarbonat (NaHCO₃) untuk proses hidrolisis, untuk uji fitokimia menggunakan logam Mg, HCl 37%, FeCl₃ 1%, reagen *Lieberman Burchard* (kloroform, asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ 96%). Selain itu untuk uji

antioksidan menggunakan reagen 1,1-difenil-2-pikrilhidrail (DPPH) dan pelarut metanol p.a. Sedangkan untuk uji FTIR digunakan KBr.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini antara lain :

1. Preparasi sampel
2. Ekstraksi senyawa aktif
3. Hidrolisis senyawa aktif
4. Uji fitokimia
5. Uji antioksidan dengan reagen DPPH, kemudian identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis
6. Identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometer FTIR

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Penyiapan Sampel

Daun kedondong yang muda atau tidak terlalu tua dan berwarna hijau. Daun kedondong selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan disortasi basah untuk memisahkan kotoran yang menempel pada daun dan memisahkan daun yang kurang baik. Daun kedondong yang sudah bersih selanjutnya dikeringkan angin-angin selama 7 hari, setelah itu dikeringkan dengan oven suhu 40°C sampai kering (± 3 hari). Serbuk yang telah kering dihaluskan menggunakan mesin penggiling kemudian diayak menggunakan ayakan nomor 60 mesh sampai serbuk dapat diayak habis.

3.4.2 Ekstraksi

Ekstraksi ini mengacu pada penelitian Rohmaniyah (2016) namun dengan menggunakan pelarut air, metanol 80% dan etanol 80%. Simplisia yang sudah diserbukkan kemudian ditimbang sebanyak 300 gram simplisia menjadi 3 bagian yang sama rata (50 gram), kemudian dimasukkan kedalam botol kaca besar berwarna gelap yang sudah diberi lebel (1, 2 dan 3). Ditambahkan pelarut air kedalam botol 1, metanol 80% kedalam botol 2 dan etanol 80% kedalam botol 3 sebanyak sebanyak 500ml pada masing-masing pelarut (1:10). Didiamkan selama 24 jam dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari sambil sesekali digojog dan diaduk tiga kali sehari. Kemudian sampel tersebut di shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Setelah itu, filtrate yang diperoleh disaring dengan *vacuum Buchner*, kemudian dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan dialiri gas N₂ sampai diperoleh ekstrak yang pekat. Ekstrak yang diperoleh setelah itu dihitung rendemennya dengan menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut :

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

3.4.3 Hidrolisis Senyawa Aktif (Andriani, 2015)

Filtrat yang telah diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Filtrat dipekatkan dan dihidrolisis menggunakan HCl 2N (1:2) selama 1 jam dengan menggunakan magnetic stirrer hot plate pada suhu ruang. Kemudian dinetralkan dengan natrium bikarbonat (NaCO₃) sampai pH netral.

3.4.4 Analisis Fitokimia (Harbone, 1987)

3.4.4.1 Uji Flavonoid

Ekstrak daun kedondong diambil 2 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi. Ekstrak dilarutkan dalam 2 mL etanol panas 50%. Kemudian ditambah 0,1 gram serbuk logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Hasil positif terdapat senyawa flavonoid apabila didapatkan larutan berwarna merah atau jingga pada sampel ekstrak daun kedondong. Diulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak daun kedondong pada variasi pelarut lainnya.

3.4.4.2 Uji Alkaloid

Ekstrak daun kedondong diambil 2 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 0,5 mL HCl 2 N dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dreagendroff, tabung 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuningan (dengan reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid. Diulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak daun kedondong pada variasi pelarut lainnya.

3.4.4.3 Uji Saponin

Ekstrak sampel daun kedondong diambil 2 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, bila busa yang terbentuk bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung

saponin. Diulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak daun kedondong pada variasi pelarut lainnya.

3.4.4.4 Uji Tanin

Ekstrak sampel daun kedondong diambil 2 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Apabila larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin. Diulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak daun kedondong pada variasi pelarut lainnya.

3.4.4.5 Uji Steroid atau Terpenoid

Ekstrak sampel daun kedondong diambil 2 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 2-3 tetes larutan reagen Liberman Buchard. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya triterpenoid. Apabila hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid. Diulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak daun kedondong pada variasi pelarut lainnya.

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1,5 mL, ditambah etanol 4,5 mL lalu didiamkan \pm 10 menit. Setelah itu dimasukkan ke dalam kuvet. Dicari λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, dkk., 2010).

3.4.5.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Larutan ekstrak 200 ppm dibuat sebanyak 25 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL. Larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet, kemudian dicari waktu kestabilan setelah inkubasi dan sebelum inkubasi dalam rentang waktu 5-120 menit dengan interval 5 menit pada suhu 37 °C, kemudian dicari waktu kestabilan. Sampel diukur menggunakan spektrometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

3.4.5.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

a) Absorbansi Kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM diambil sebanyak 1,5 mL, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut dari ekstrak sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan.

Absorbansi sampel: ekstrak dilarutkan dalam pelarut air dengan variasi konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm. Masing-masing variasi diambil sebanyak 4,5 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Setelah itu ditambahkan 1,5 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ke dalam masing-masing variasi. Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37 °C, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh untuk mengukur absorbansinya pada λ_{maks} . Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%)

aktivitas antioksidannya (Mardiyah, dkk., 2014). Untuk menghitung nilai % Antioksidan dengan rumus di bawah ini:

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

3.4.5.4 Pengukuran EC₅₀

Nilai % aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi senyawa digunakan untuk menghitung nilai EC₅₀. Penentuan nilai EC₅₀ menggunakan persamaan non linier pada program Graphpad Prism 8 dengan cara dibuat grafik hubungan antara log konsentrasi dengan % antioksidan. Kemudian nilai EC₅₀ sampel dibandingkan dengan nilai EC₅₀ pembanding dengan perlakuan yang sama.

3.4.6 Identifikasi dengan FTIR (Winarti, 2016)

Ekstrak terbaik hasil uji toksisitas kemudian diidentifikasi dengan sepektrofotometer FTIR merk varian tipe FT 1000. Hasil ekstrak sebanyak 4ml dikeringkan kedalam oven 50°C, kemudian dikerok dan digerus bersama KBr. Setelah itu dimasukkan dalam lempeng pembuatan pelet dan divakumkan untuk menghilangkan kadar air. Selanjutnya dipress selama 10 menit pada tekanan 80 torr (8 ton per satuan luas) untuk menghasilkan lempeng pelet. Pelet diidentifikasi menggunakan FTIR pada bilangan gelombang 400-4000 cm⁻¹.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel daun kedondong (*Spondias dulcis*) dalam penelitian ini melalui tahap pencucian sampel yang bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang melekat dan benda asing yang menempel pada daun. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan cara diangin-angin untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi dan tidak mudah rusak dengan adanya mikroba. Daun kedondong kemudian dihaluskan dengan ukuran 90 mesh, bertujuan penyerbukan untuk menyeragamkan ukuran sampel dan memperluas permukaan agar mempermudah kontak sampel terhadap pelarut saat proses ekstraksi, sehingga diperoleh hasil yang maksimal. Hasil pengeringan dari berat sampel basah sebanyak 2.500 gram menghasilkan 756 gram serbuk daun kedondong kering.

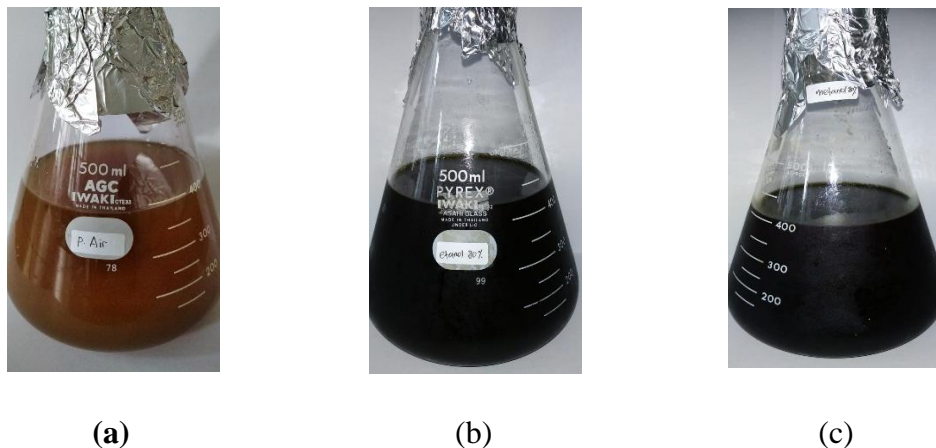


Gambar 4.1 Serbuk simplisia daun kedondong

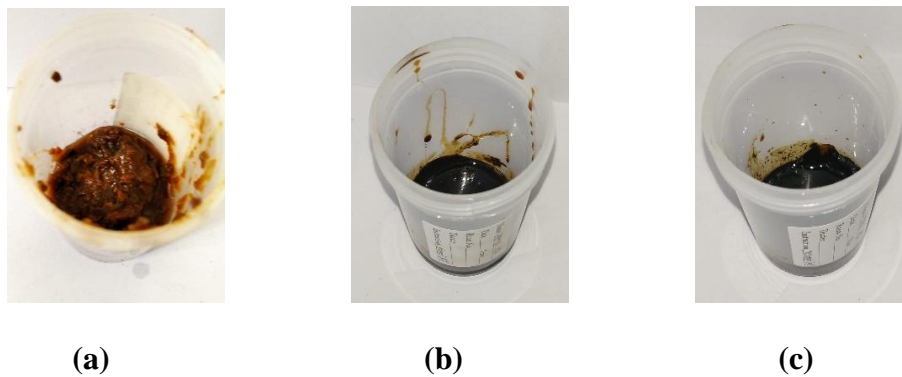
4.2 Ekstraksi Maserasi Simplisia Daun Kedondong dengan Variasi Pelarut

Ekstraksi sampel pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan tiga varian pelarut yaitu pelarut etanol 80%, metanol 80% dan pelarut air.

Pengadukan pada proses ekstraksi bertujuan untuk mempercepat kontak antar sampel dan pelarut. Hasil penyaringan diperoleh filtrat berwarna hijau kehitaman pada pelarut etanol 80% dan metanol 80%, sedangkan pada pelarut air berwarna hijau lumut (hijau muda). Proses evaporasi pada tahap ini dilakukan untuk menghilangkan pelarut pada sampelnya. Hasil rendemen ekstrak daun kedondong ditunjukkan pada table 4.1



Gambar 4.2 Filtrat hasil ekstraksi maserasi air (a), etanol 80% (b), metanol 80% (c)



Gambar 4.3 Ekstrak kasar air (a), etanol 80%(b), metanol 80% (c)

Table 4.1 Hasil rendemen ekstrak daun kedondong dari berbagai pelarut

Jenis Pelarut	Warna Ekstrak	Rendemen (%)
Etanol 80%	Hijau Kehitaman	17,91
Metanol 80%	Hijau Kehitaman	14,91
Air	Coklat	45,05

Hasil pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rendemen tertinggi pada ekstrak daun kedondong yakni pada pelarut air sebesar 45,05% sedangkan rendemen terendah pada pelarut metanol 80% sebesar 14,91%. Faktor yang mempengaruhi nilai rendemen salah satunya yaitu jenis pelarut (Hidayat dkk., 2016). Penggunaan jenis pelarut dengan perbedaan polaritas dapat mempengaruhi nilai rendemen yang dihasilkan. Selain itu perbedaan pelarut juga mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif pada sampel (Santoso, dkk., 2012).

Tingginya rendemen pada ekstrak daun kedondong dengan pelarut air sebesar 45,05%, diduga senyawa dalam daun kedondong cenderung bersifat polar dan masih dalam bentuk glikosida. Hal ini disebabkan sampel yang digunakan masih berupa ekstrak kasar, di mana senyawa metabolit sekunder masih berikatan dengan gula (glukon) membentuk senyawa glikosida yang memiliki gugus OH hidroksil.

4.3 Hidrolisis

Hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida sehingga tidak diperoleh senyawa aktif yang mengandung gula, dikarenakan sebagian besar senyawa aktif yang terdapat di alam mengandung komponen gula (glukon). Ekstrak hasil ekstraksi dihidrolisis dengan menggunakan HCl 2N yang merupakan asam kuat sehingga lebih mudah terionisasi melepas proton H^+ secara sempurna dalam air. Sedangkan asam lemah cenderung terionisasi sebagian dalam pelepasan ion H^+ (Handoko, 2006).

Reaksi hidrolisis bersifat *reversible* (bolak-balik), sehingga perlu adanya penetralan dengan menggunakan $NaHCO_3$ sampai diperoleh pH netral, hal ini

agar tidak terjadi pembentukan ikatan glikosida antara glikon dan anglikon kembali. Penambahan NaHCO_3 dalam ekstrak kasar akan menghasilkan gelembung gas CO_2 yang menandakan adanya reaksi HCl dengan NaHCO_3 .



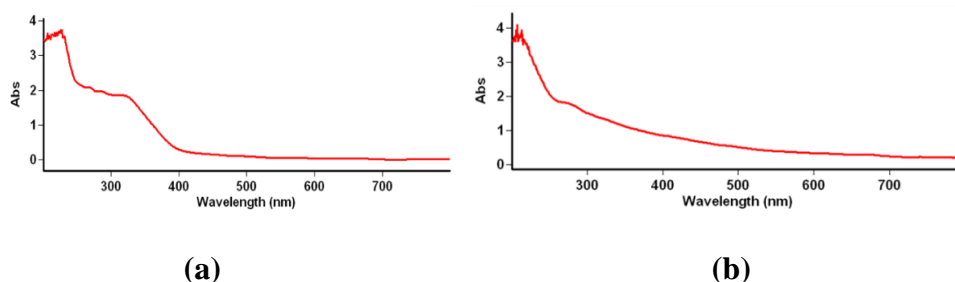
(a) (b) (c)
Gambar 4.4 Hasil hidrolisis ekstrak air (a), etanol 80% (b), metanol 80% (c)

Berdasarkan Gambar 4.4 hasil hidrolisis ketiga ekstrak tidak menunjukkan hasil fisik yang berbeda dari sebelumnya. Setelah di hidrolisis tidak menunjukkan adanya endapan, hal ini ditunjukkan setelah dihidrolisis ekstrak memiliki tekstur encer yang mana ekstrak kasar sudah tercampur sempurna dengan larutan yang dapat memutus ikatan glikosida. Selain itu tidak terjadi perubahan bau ataupun warna ekstrak setelah dihidrolisis.

4.4 Uji Spektrofotometer UV-Vis

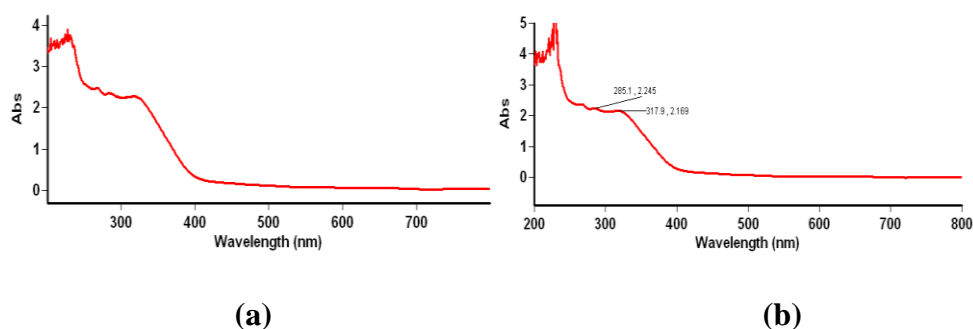
Ekstrak etanol, ekstrak metanol dan ekstrak air daun kedondong baik sebelum atau setelah di hidrolisis diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimumnya. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan serapan panjang

gelombang pada ekstrak etanol dan hasil hidrolisis daun kedondong seperti pada Gambar 4.11 dan Gambar 4.12



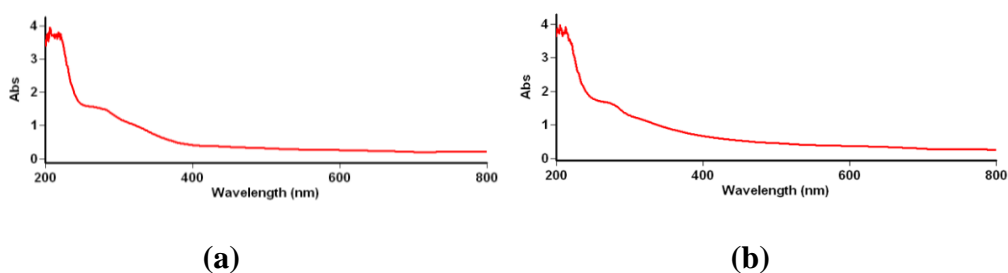
Gambar 4.5 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak etanol daun kedondong sebelum (a) dan sesudah dihidrolisis (b)

Berdasarkan Gambar 4.5 uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak etanol diperoleh serapan panjang gelombang maksimum 282,9 nm yang menunjukkan adanya transisi $n-\pi^*$ dan 229,0 nm menunjukkan terjadinya transisi $\pi-\pi^*$. Sedangkan pada ekstrak hidrolisis etanol diperoleh panjang gelombang 222,1 nm. Serapan 229.0 nm dan 222.1 nm menunjukkan bahwa terdapat transisi elektron $\pi-\pi^*$. Suhartati (2013) menyatakan bahwa panjang gelombang 203-232 nm menandakan terjadinya transisi $\pi-\pi^*$. Menurut Hartanti dan Suyatno (2016) adanya transisi elektron $\pi-\pi^*$ menyebabkan ikatan rangkap C=C tidak terkonjugasi. Selain itu Rosyada dan Ersam (2009) menyebutkan bahwa tanin dapat diindikasikan pada panjang gelombang 280,5 nm.



Gambar 4.6 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak metanol daun kedondong sebelum (a) dan sesudah dihidrolisis (b)

Hasil identifikasi uji UV-Vis pada Gambar 4.6 ekstrak metanol menunjukkan pita I pada serapan panjang gelombang maksimum 321.0 nm menunjukkan terjadinya transisi $n-\pi^*$ dan pita II 235.1 nm menunjukkan transisi $\pi-\pi^*$. Sedangkan setelah dihidrolisis diperoleh panjang gelombang maksimum pita I 317.9 nm dan pita II 235.0 nm. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Deskawi dkk. (2015) bahwa spektrum khas flavonoid terdiri dari dua spektrum, rentang 240 – 285 nm pada pita II dan 300 – 550 nm pada pita I, hal ini sesuai pada ekstrak metanol dan hidrolisis metanol terdapat pita I pada panjang gelombang 321.0 nm dan 317.9 nm, pada pita II 284.0 nm dan 266.1 nm.



Gambar 4.5 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak air daun kedondong sebelum (a) dan sesudah dihidrolisis (b)

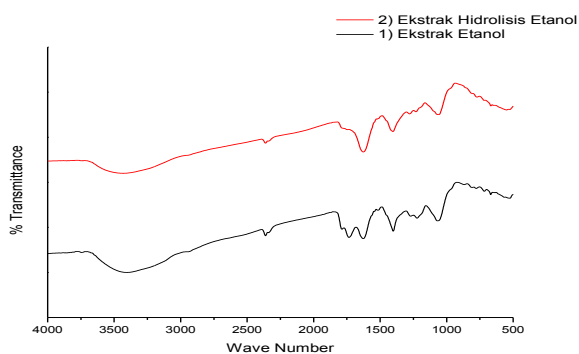
Hasil spektrofotometer UV-Vis pada Gambar 4.5 menunjukkan hasil serapan panjang gelombang maksimum 786.0 nm, 221.0 nm dan 218.0 nm pada ekstrak air sebelum hidrolisis. Panjang gelombang 786.0 nm menunjukkan adanya senyawa glikon yang memiliki ikatan hidrogen sangat kuat, sehingga membutuhkan energi eksitasi yang sangat tinggi. Sedangkan pada ekstrak air sesudah dihidrolisis diperoleh panjang gelombang maksimum 221.0 nm dan 218.0 nm yang mana menandakan terjadinya transisi elektron $\pi-\pi^*$.

Hasil identifikasi di atas dikuatkan oleh hasil penelitian Astuti dkk. (2014) dimana transisi $\pi-\pi^*$ merupakan serapan khas senyawa triterpenoid yang memiliki

kromofor berupa ikatan rangkap terkonjugasi. Adapun pada penelitian Ergina dkk. (2014) senyawa triterpenoid diperoleh pada panjang gelombang 205,6 nm. Senyawa saponin menurut penelitian Peixoto dkk. (2011) mempunyai serapan khas pada rentang 210 – 215 nm.

4.5 Uji Spektrofotometer FTIR

Analisis selanjutnya menggunakan spektrofotometer FT-IR berfungsi untuk menentukan gugus fungsi, menentukan tingkat kemurnian suatu senyawa. Adapun hasil spektra FT-IR di bawah ini :



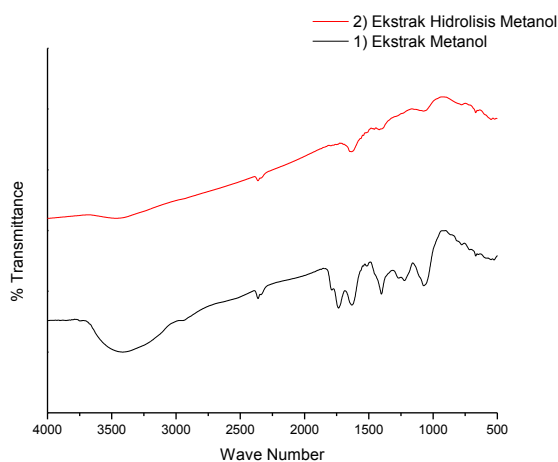
Gambar 4.11 Spektra FTIR ekstrak etanol 80% sebelum dan sesudah dihidrolisis

Tabel 4.4 Hasil analisis uji spektrofotometer FTIR ekstrak etanol 80% dan ekstrak hidrolisis etanol 80% (Silverstein, 2005)

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)			Gugus fungsi
Ekstrak hidrolisis etanol	Ekstrak etanol	Referensi	
3431,461	3405,368	3000-4000	-OH (<i>stretching</i>)
2361,984	2361,799	2381-2926	C≡C (<i>stretching</i>)
1748,753	1734,267	1650-1800	C=O aromatis
1626,535	1626,802	1600-1660	C=C <i>stretching</i>
1403,648	1401,677	1375-1450	C-H <i>bending</i>
1230,423	1270,122	1150-1350	C-O-C (<i>stretching</i>) eter
	1222,402	1200-1320	C-O asam
1059,602	1058,923	1000-1260	C-O alkoksi
548,450	524,559	420-600	C-H <i>bending (out of plane)</i>

Hasil analisis spektra FTIR ekstrak etanol 80% dan ekstrak hidrolisis etanol 80% daun kedondong (*Spondias dulcis*) pada tabel 4.4 ditemukan gugus fungsi C-O pada ekstrak etanol terdapat pada serapan $1222,402\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan ciri khas asam karboksilat, sedangkan pada sampel ekstrak hidrolisis etanol tidak terdapat gugus C-O asam. Hal ini disebabkan setelah hidrolisis ekstrak hidrolat harus bersifat netral agar tidak terbentuk ikatan glikosida antara glikon dan anglikon kembali.

Serapan $3431,461\text{ cm}^{-1}$ pada ekstrak hidrolisis dan $3405,368\text{ cm}^{-1}$ pada ekstrak kasar etanol menunjukkan adanya gugus fungsi -OH yang terikat pada cincin fenol, diperkuat dengan serapan $1626,535\text{ cm}^{-1}$ ekstrak hidrolisis dan $1626,802\text{ cm}^{-1}$ ekstrak kasar terdapat gugus C=C (alkena) gugus fenol. Dan gugus C-O alkoksi pada daerah $1059,602\text{ cm}^{-1}$ hidrolisis etanol dan $1058,923\text{ cm}^{-1}$ ekstrak etanol menandakan adanya alkohol. Selain itu juga diperoleh gugus fungsi karbonil C=O pada ekstrak etanol $1734,267\text{ cm}^{-1}$ dan hidrolisis etanol pada sepektra $1748,753\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya senyawa ester atau keton. Serapan ekstrak hidrolisis etanol $1403,648\text{ cm}^{-1}$ dan $1401,677\text{ cm}^{-1}$ ekstrak etanol diduga menunjukkan gugus fungsi C-H *bending* yang merupakan gugus gemdimetil ciri khas senyawa triterpenoid. Pada serapan $1230,423\text{ cm}^{-1}$ hidrolisis etanol dan $1270,122\text{ cm}^{-1}$ ekstrak etanol menunjukkan gugus fungsi C-O-C ciri khas pada senyawa ester.



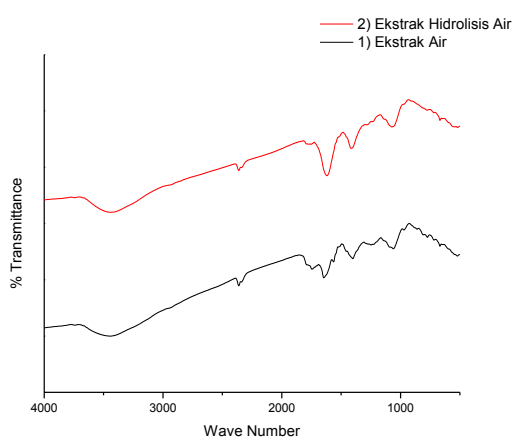
Gambar 4.12 Spektra FTIR ekstrak metanol 80% sebelum dan sesudah dihidrolisis

Tabel 4.5 Hasil analisis uji spektrofotometer FTIR ekstrak metanol 80% dan ekstrak hidrolisis metanol 80% (Silverstein, 2005)

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)			Gugus fungsi
Ekstrak hidrolisis metanol	Ekstrak metanol	Referensi	
3465,947	3416,326	3200-3600	-OH (<i>stretching</i>)
2362,286	2361,876	2100-2400	C≡C (<i>stretching</i>)
	1735,341	1650-1800	C=O aromatis
1635,099	1632,105	1600-1660	C=C
	1401,514	1375-1450	C-H <i>bending</i>
	1222,764	1200-1320	C-O asam
1074,108	1072,329	1000-1260	C-O alkoksi
778,882	776,792	700-1000	sp ² C-H (<i>bending</i>)
548,838		420-600	C-H <i>bending (out of plane)</i>

Hasil uji FTIR pada tabel 4.5 menunjukkan pada ekstrak metanol terdapat gugus fungsi -OH pada 3416,326 cm⁻¹ dan hidrolisis metanol 3465,947 cm⁻¹ yang terikat pada cincin fenol. Hal tersebut diperkuat dengan adanya gugus C=C pada 1632,105 cm⁻¹ ekstrak metanol dan 1635,099 cm⁻¹ hidrolisis metanol yang menunjukkan keberadaan alkena pada gugus fenol dan gugus C-O alkoksi pada hidrolisis etanol 1074,108 cm⁻¹ dan 1072,329 cm⁻¹ pada ekstrak metanol menunjukkan adanya alkohol. Pada ekstrak metanol terdapat pita serapan gugus

karbonil C=O terjadi pada $1735,341\text{ cm}^{-1}$ untuk ester (pada struktur glikosida) dan diperkuat dengan gugus fungsi C-O asam pada ekstrak metanol terdapat pada serapan $1222,764\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan ciri khas asam karboksilat. Pada daerah $1401,514\text{ cm}^{-1}$ ekstrak metanol diperoleh gugus C-H *bending* diduga gem dimetil yang merupakan ciri khas senyawa triterpenoid. Serta serapan $776,792\text{ cm}^{-1}$ ekstrak metanol dan $778,882\text{ cm}^{-1}$ hidrolisis metanol menunjukkan adanya gugus C-H rantai alifatik.



Gambar 4.13 Spektra FTIR ekstrak air sebelum dan sesudah dihidrolisis

Tabel 4.6 Hasil analisis uji spektrofotometer FTIR ekstrak air dan ekstrak hidrolisis air (Silverstein, 2005)

Bilangan gelombang (cm^{-1})			Gugus fungsi
Ekstrak hidrolisis air	Ekstrak air	Referensi	
3437,638	3444,055	3200-3600	-OH (<i>stretching</i>)
2361,906	2361,762	2100-2400	C≡C (<i>stretching</i>)
	1745,143	1650-1800	C=O aromatis
1619,538	1645,894	1600-1660	C=C
1415,522	1401,738	1375-1450	C-H <i>bending</i>
	1248,034	1200-1320	C-O asam
1072,041	1059,744	1000-1260	C-O alkoksi
776,776		700-1000	sp ² C-H (<i>bending</i>)
546,282	520,783	420-600	C-H <i>bending (out of plane)</i>

Hasil uji FTIR pada tabel 4.5 menunjukkan pada ekstrak hidrolisis air pada $3437,638\text{ cm}^{-1}$ dan ekstrak air $3444,055\text{ cm}^{-1}$ terdapat gugus fungsi -OH yang terikat pada cincin fenol, yang diperkuat dengan adanya gugus C=C pada $1619,538\text{ cm}^{-1}$ hidrolisis air dan $1645,894\text{ cm}^{-1}$ ekstrak air yang menunjukkan keberadaan alkena pada gugus fenol. Selain itu diperoleh gugus C-O alkoksi pada hidrolisis air $1072,041\text{ cm}^{-1}$ dan $1059,744\text{ cm}^{-1}$ pada ekstrak air yang menunjukkan adanya alkohol. Pita serapan gugus karbonil C=O pada ekstrak air terjadi pada $1745,143\text{ cm}^{-1}$ untuk ester (pada struktur glikosida) dan diperkuat dengan gugus fungsi C-O asam pada serapan $1248,034\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan ciri khas asam karboksilat. Pada daerah $1415,522\text{ cm}^{-1}$ ekstrak hidrolisis air dan $1401,738\text{ cm}^{-1}$ pada ekstrak air diperoleh gugus C-H *bending* gem dimetil yang merupakan ciri khas senyawa triterpenoid. Serta serapan $776,776\text{ cm}^{-1}$ hidrolisis hidrolisis air menunjukkan adanya gugus C-H rantai alifatik.

4.6 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Uji fitokimia dilakukan untuk memperkuat kandungan yg berperan sebagai antioksidan. Hasil uji fitokimia ditunjukkan pada tabel 4.2

Table 4.2 Hasil Uji Fitokimia pada Ekstrak Daun Kedondong (*Spondias dulcis*) sebelum dan sesudah hidrolisis

Senyawa aktif	Air		Etanol 80%		Metanol 80%	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Flavonoid	+	+	+	+	+	+
Alkaloid						
- Dragendorf	-	-	-	-	-	-
- Mayer	-	-	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-	-	-
Tanin	+	+	+	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-	-	-

Keterangan: + = Mengandung senyawa
- = Tidak mengandung senyawa

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak air, ekstrak etanol dan ekstrak metanol diduga mengandung senyawa flavonoid, tannin dan terpenoid. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya flavonoid positif pada keenam sampel ditandai adanya perubahan warna larutan merah atau jingga. Namun pada pelarut air baik hasil hidrolisis maupun tidak dihidrolisis warnanya sangat lemah, hal ini dikarenakan pelarut air tidak dapat mengikat senyawa flavonoid dengan baik (Riyani dan Adawiah, 2015).

Hasil uji tanin pada ekstrak air, ekstrak etanol 80%, ekstrak metanol 80%, hidrolisis ekstrak air, hidrolisis ekstrak etanol 80% dan hidrolisis ekstrak metanol 80% positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kebiruan. Adanya tanin dalam sampel daun kedondong tersebut sesuai penelitian Azizah (2019) menyatakan bahwa ekstrak daun kedondong mengandung metabolit sekunder tanin, triterpenoid dan flavonoid. Hasil uji fitokimia triterpenoid kelima sampel positif ditunjukkan adanya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut. Hal ini

sesuai dengan penelitian terdahulu ekstrak daun kedondong mengandung metabolit sekunder triterpenoid (Azizah, 2019).

Hasil uji fitokimia didukung dengan hasil identifikasi UV-Vis dan FTIR ketiga jenis ekstrak baik sebelum dan sesudah dihidrolisis dapat disimpulkan adanya dugaan senyawa flavonoid dengan menunjukkan dua pita ciri khas kromofor fenol dan triterpenoid yang menunjukkan ciri khas transisi elektron $\pi-\pi^*$ dan $n-\pi^*$, selain itu juga diperoleh panjang gelombang maksimum 282.9 nm pada ekstrak etanol sebelum hidrolisis yang menandakan senyawa tanin dalam uji UV-Vis.

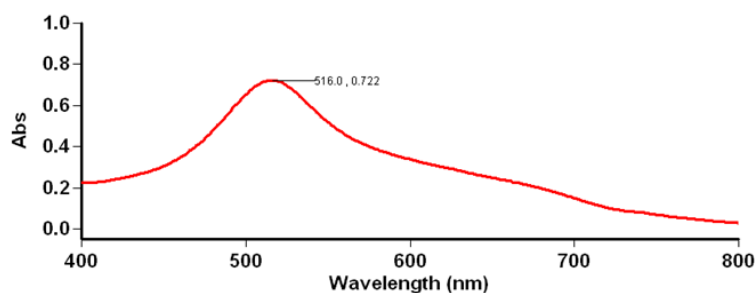
Berdasarkan uji FTIR diperoleh dugaan senyawa triterpenoid pada ekstrak etanol, ekstrak air sebelum dan sesudah hidrolisis dan metanol sebelum hidrolisis pada daerah serapan $1375-1450\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan senyawa gem dimetil ciri khas senyawa triterpenoid. Selain itu pada identifikasi FTIR diperoleh gugus fungsi C=O aromatis pada daerah serapan $1650-1800\text{ cm}^{-1}$ pada ekstrak etanol sebelum dan sesudah dihidrolisis, ekstrak metanol dan air sebelum dihidrolisis. Adapun gugus fungsi C-O-C pada daerah serapan $1150-1350\text{ cm}^{-1}$ pada ekstrak etanol sebelum dan sesudah hidrolisis. Di mana gugus C=O aromatis dan C-O-C *stretching* diduga menandakan adanya senyawa tanin atau flavonoid (Asnani, 2017).

4.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum untuk mengetahui panjang gelombang dengan nilai absorbansi tertinggi. Pengukuran sampel harus dilakukan

pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan (Rohman dan Gandjar, 2007). Spektra hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 Mm sebesar 516 nm. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian menyatakan bahwa panjang gelombang maksimum DPPH dengan pelarut etanol adalah 516 nm (Molyneux, 2004; Widyaningsih, 2010; Febrianti, dkk., 2021). Penentuan panjang gelombang DPPH sebagai kontrol bertujuan mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran dan menjaga konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran agar tetap konstan (Molyneux, 2004).



Gambar 4.5 Hasil spektra penentuan panjang gelombang DPPH

4.7.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan pada Sampel dengan Metode DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dengan panjang gelombang maksimum 516 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk metode DPPH. Pemeriksaan sampel ekstrak diencerkan dalam beberapa konsentrasi, masing-masing sampel menggunakan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 ppm. Pemberian lapisan alumunium foil pada tabung reaksi bertujuan untuk meminimalkan reaksi oksidasi oleh cahaya. Larutan kontrol yang berisi etanol p.a. (proanalisa) dan DPPH digunakan sebagai penentuan persen aktivitas antioksidan.

Nilai absorbansi didapatkan dari pengukuran DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan antioksidan sehingga untuk menentukan kuantitas DPPH yang bereaksi dengan antioksidan dihitung selisih antara absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel. Secara kualitatif adanya antioksidan pada sampel dapat dilihat dari perubahan warna ungu menjadi ungu pudar setelah diberi reagen DPPH (Sakinah, 2017). Perubahan warna disebabkan karena senyawa antioksidan dari sampel telah mendonorkan atom hidrogen sehingga molekul DPPH tereduksi. Hasil pengukuran % aktivitas antioksidan dan nilai EC₅₀ ekstrak daun kedondong ditunjukkan pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Data hasil % aktivitas antioksidan dan nilai EC₅₀ dari berbagai hasil hidrolisis pelarut

Sampel	Konsentrasi	% Aktivitas Antioksidan	Nilai EC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Air	25 ppm	14,2780	7044,2
	50 ppm	15,1140	
	75 ppm	13,4983	
	100 ppm	19,0718	
	125 ppm	18,9963	
Ekstrak Etanol 80%	25 ppm	10,3415	2659
	50 ppm	9,4236	
	75 ppm	11,64975	
	100 ppm	14,6864	
	125 ppm	18,7898	
Ekstrak Metanol 80%	25 ppm	23,5447	157,8
	50 ppm	32,8096	
	75 ppm	37,0725	
	100 ppm	42,8474	
	125 ppm	46,7277	

Berdasarkan tabel 4.3 pada sampel dengan pelarut metanol 80% menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persen aktivitas antioksidan. Hal ini dikarenakan semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang mendonorkan atom H pada radikal DPPH, hal ini sesuai dengan penelitian Supriyanto, dkk., (2017).

Hasil pengukuran nilai EC₅₀ ekstrak air pada table 4.3 memiliki nilai sebesar 7044,2 ppm yang artinya memiliki potensi antioksidan yang sangat lemah karena memiliki nilai EC₅₀ lebih dari 200 ppm. Begitu pula dengan ekstrak etanol 80% dengan nilai sebesar 2659 ppm. Sedangkan ekstrak dengan pelarut metanol 80% memiliki potensi antioksidan yang lemah dengan nilai 157,8 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut metanol 80% merupakan pelarut yang lebih efisien untuk mengikat senyawa antioksidan dalam penelitian ini (Supriyanto, dkk., 2012). Sementara itu, pelarut air yang dikenal sebagai pelarut sangat polar adalah pelarut penarik senyawa glikosida, polisakarida, namun kurang efektif untuk mengikat senyawa antioksidan (Riyani dan Adawiah, 2015).

4.8 Pemanfaatan Tanaman Kedondong (*Spondias dulcis*) sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Allah SWT. Menciptakan langit, bumi dan seisinya semua memiliki manfaatnya masing-masing. Kekuasaan Allah SWT yang begitu besar bagi makhluk hidup yang ada di bumi merupakan suatu tanda bagi mereka tentang adanya Sang Maha Pencipta. Dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Al-A'raf ayat 58:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا ۚ كَذَلِكَ نُصَرِّفُ
الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya: "Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan izin Tuhan; dan tanah yang buruk, tanaman-tanamannya yang tumbuh merana. Demikianlah Kami menjelaskan berulang-ulang tanda-tanda (kebesaran Kami) bagi orang-orang yang bersyukur" (Q.S.Al-A'raf (7): 58).

Berdasarkan ayat tersebut, kata **وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ** atau *albaladu tholibu* dalam bahas arab berartiy tanah yang baik (Shihab, 2002). Tanah yang baik adalah tanah yang menjadikan tanamannya tumbuh subur dan hidup dengan izin Allah. Dan tanah yang tidak subur memiliki tanaman yang sedikit kandungan metabolit skundernya. Maka dari itu dengan kelebihan akal yang dimiliki harus berpikir dengan memanfaatkan nikmat alam yang telah Allah SWT. ciptakan seperti memanfaatkan tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Hal ini tercantum dalam Firman Allah SWT. surah Asy-Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?" (Q.S.Asy-Syu'ara (26): 7).

Surat Asy-Syuaraa ayat 7 tersebut kata **كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ** atau *kulli zauji kariim* menerangkan bahwa Allah menciptakan berbagai macam tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang mempunyai manfaat bagi manusia dan lingkungan sekitar (Shihab, 2002). Tanaman yang digunakan sebagai obat pada penelitian ini adalah daun kedondong. Daun kedondong telah diteliti oleh peneliti terdahulu bahwa tanaman ini mengandung senyawa antioksidan. Maka dari itu untuk mengetahui manfaat daun kedondong harus dilakukan penelitian terlebih dahulu. Sebagaimana firman Allah SWT. dalam surah Al-Imran ayat 190-191:

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

Artinya: "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang yang berakal. (Yaitu) orang yang mengingat Allah, sambil berdiri, duduk, atau berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), 'Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Mahasuci Engkau, peliharalah kami dari siksa api neraka.'" (Q.S.Ali 'Imran, (3): 190-191)

Tafsir al-Misbah karya Quraish Shihab surat Al Imran ayat 190-191, ayat tersebut dijelaskan sebagian dari ciri-ciri siapa yang dinamai *ulul albab*. Mereka adalah orang, baik laki-laki atau perempuan, yang terus menerus mengingat Allah, dengan ucapan dan atau hati dalam seluruh situasi dan kondisi apapun. Dengan cara apa mereka mengingat Allah? Yakni dengan cara berdzikir. Dapat disimpulkan, *ulul albab* ialah orang-orang yang menggunakan akal dan logikanya dengan baik dan benar. Dengan melalui tanda-tanda ciptaan Allah, maupun hukum ketetapan Allah, serta memahami sabab nuzul ayat Al-Quran, maka semua itu bisa disebut dengan *ulul albab*. bahwa orang-orang yang berakal akan memikirkan segala ciptaan Allah SWT. yang terdapat di langit dan bumi, mereka memahami dan mempelajarinya kemudian mengambil hikmahnya sehingga mereka mampu menunjukkan betapa besar keagungan Allah SWT. atas segala ciptaan-Nya.

Berdasarkan penelitian ini terdapat uji antioksidan dan uji fitokimia yang digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder pada sampel. Setelah dilakukan uji tersebut dapat diketahui bahwa terbukti daun kedondong mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin dan triterpenoid yang keseluruhan senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan berperan sebagai penangkal radikal bebas dalam tubuh, karena sumber penyakit berawal dari radikal bebas yang berlebih dalam tubuh. Radikal bebas merupakan

molekul organik yang bertanggung jawab atas terjadinya penuaan dini, kerusakan jaringan, dan kemungkinan timbulnya beberapa penyakit seperti kanker dan gangguan pada jantung. Hal ini dapat diminimalisir dengan antioksidan yang terdapat pada daun kedondong.

BAB V

PENUTUP

5.6 Kesimpulan

1. Ekstrak daun kedondong pada pelarut etanol, metanol dan air masing-masing diperoleh rendemen sebesar 17,9088%; 14,9088% dan 45,0522%.
2. Berdasarkan uji fitokimia diduga diperoleh senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tannin dan triterpenoid pada ketiga sampel ekstrak etanol, metanol dan air baik setelah dihidrolisis maupun sebelum hidrolisis.
3. Berdasarkan perhitungan % antioksidan diperoleh nilai EC₅₀ pada ekstrak etanol sebesar 2659 ppm, ekstrak metanol 80% 157,8 ppm dan ekstrak air 7044,2 ppm yang menandakan bahwa sampel daun kedondong dengan ke tiga pelarut metanol 80% memiliki potensi sumber antioksidan yang kurang, sedangkan dengan pelarut etanol 80% dan air sangat kurang.
4. Berdasarkan analisis hasil uji FTIR diperoleh gugus fungsi –OH *stretching*, C=O aromatis, C=C *stretching*, C-H *bending*, C-O-C *stretching*, C-O asam (pada pelarut sebelum dihidrolisis), C-O alkoksi dan C-H *bending (out of plane)*.

5.7 Saran

Penelitian ini diperlukan tindakan lanjut dengan toksisitas pada daun kedondong, sehingga dapat menambah informasi tentang kadar toksisitas dari daun kedondong sebagai obat. Selain itu pada penelitian ini digunakan konsentrasi baku standar yang tinggi yakni 1000 ppm, sehingga perlu dikaji ulang dengan

menggunakan konsentrasi yang lebih rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N., Davidovic. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatia Chem Acta* 76.
- Arif M, Fareed S, Rahman M.A., 2016. Setrees Relaxant and Antioxidant Activities of Acid Glycoside from *Spondias magnifera* Fruit Against Physically and Chemically Challenge Albino Mice. *Journal Pharm Bioallied. Sci* 8: 58-63. DOI: 10.4103/0975-7406.171685.
- Asnani, dkk., 2017. Aktivitas Antibakteri dan Sitoksitas Ekstrak Daun Kedondong Hutan. *Journal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 28 (2).
- Aulia, Rajiatul. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Dari Berbagai Fraksi Daun Kedondong (*Spondias dulcis* Parkinson). *Sekripsi*. Padang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.
- Azizah, Suhaimi, dkk., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kedondong Hutan (*Spondias pinnata* (L.F.) Kurz.) dengan Berbagai Metode Uji. Makassar: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol. 5. No.1. Hal: 91-96.
- Balqis U, Rasmaidar, Marwiyah. 2014. Gambaran histopatologis penyembuhan luka bakar menggunakan daun kedondong (*Spondias dulcis* F.) Dan minyak kelapa pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Banda Aceh : Jurnal Medika Veterinaria*, Vol. 8 No. 1.
- Dewi, Lale Budi Kusuma, dkk., 2017. Teh Daun Kedondong (*Spondias Dulcis L*) terhadap Kadar Kolesterol Total pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). Mataram: Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes. *Quality Jurnal Kesehatan*. Vol. 11 No. 2.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- 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.

- Dungir, S. G., Dewa, G. K., dan Vanda, S. K. 2012, Aktivitas Antioksidan dan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis, Manado: Jurusan Kimia. FMIPA. UNSRAT. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*.(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.
- Evans, C.W. 2009. *Pharmacognosy Trease and Evans*. 16th Ed. London: Saunders Elsevier. P. 263-356.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyous Hdyana Pudjaamaka. Jakarta: Erlangga.
- Fitri, N. 2014. Butylated hydroxyanisole sebagai Bahan Aditif Antioksidan pada Makanan dilihat dari Perspektif Kesehatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol 4(1):41-50.
- Gani M. dkk., 2013. Ekstraksi Senyawa Fenolik Antioksidan dari Daun dan Tangkai Gambir. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia* 11 (5) : 250-256.
- Gillespie, R.J. dan Paul. 2001. *Chemical Bonding and Molecular Geometry*. London: Oxford University Press.
- Gunawan, D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam. Penebar Swadaya* : Jakarta.
- Hahlbrock K, 1981. *Flavonoids*. dalam *The Biochemistry of Plants, Vol. 7: Secondary Plant Products*. New York: Academic Press.
- Halliwel, B., Aeschbach, R., Lolinger, J., & Auroma, O. (1995). Toxicology. *J Food Chem*, 33, 60.
- Harborne, J. B 1994. *The Flavonoids*. London: Chapman dan Hall London.
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia: Penurunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan Kedua*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. SOediro. Bandung: ITB.
- Harjanti, R. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penangkap Radikal Bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dari Daun Kedondong (*Spondias dulcis*. Ex Park.).

- Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Harmanto, 2002.
- Haryati, Nur Aini, Chairul Saleh, Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzygium mytifolium* Walp) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Kimia Mulawarman*. 13 (1): 35-39.
- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan pada Anak*. Surabaya. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Inayati, H. 2007. Potensi Antibakteri Daun Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis* Forst.). *Skripsi*. IPB, Bogor.
- Jones, W. P. and A. D. Kinghorn. 2006. Extraction of Plant Secondary Metabolites. In: Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., eds. *Natural Products Isolation*. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press. P.341-342.
- Kamal, Mustafa, dkk., 2018. Kemampuan Ekstrak Daun Kedondong (*Spondias dulcis* Forst.) Sebagai Larvasida Nabati terhadap Larva Instar III *Culex quinquefasciatus*. *Journal Penelitian Sains*. Vol. 20, No. 2.
- Kiay, N., Suryanto, E., dan Mamahit, L. 2011. Efek Lama Perendaman Ekstrak Kalamansi (*Citrus microcarpa*) terhadap Aktivitas Antioksidan Tepung Pisang Goroho (*Musa spp.*). *Chem Prog* 4 : 27-33.
- Kristanti, A.N., Aminah, S.H., Tanjung. M., & Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Latifah, 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal* L.) dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Madhavi, dkk., 1996. *Food Antioksidans Tecnologycal, Toxicologycal, and Health Perspective*. New York: Marcell Dakker Inc.
- Mamahit, L dan N. H. Soekamto. 2010. Satu Senyawa Asam Organik Yang Diisolasi dari Daun Gedi (*Abelmoschus Manihot* L. Medik) Asal Sulawesi Utara. *Chem. Prog*. 3(1).42-45.

- Mardiyah, Ulfatul, dkk, 2014. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucahama spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Alchemy*. Vol: 3, No: 1, Hal: 39 - 46.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- Miryanti, A., Sapei, L., Budiono, K. dan Indra, S. 2011. Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis. *Laporan Penelitian*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan, Bandung.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Morton, JF. 1987. *Ambarella. Fruits on Warm Climates*. Miami: Florida Flair Books. Hal: 240-242.
- Mujahid, R. 2011. *Pemilihan Metode Analisis Flavonoid Secara Spektroskopi UV-Vis Serta Penerapannya Pada Seledri (*Apium graveolens* L.) Murbei (*Morus alba* L.) Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)*. Jogjakarta, Indonesia: Faculty of Pharmacy Universitas Gadjah Mada, MSc thesis.
- Perwita, Fjriyah Anjar, 2011. Teknologi Ekstraksi Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*) dalam Etanol 70% dengan Metode Perkolasi. *Tugas Akhir*. Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Surakarta : Perpustakaan UNS.
- Poedjiadi, Anna, 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Prihatman, K. 2004. *Tanaman Buah Kedondong. Pos Pelayanan Informasi Masyarakat UKM* (terhubung berkala).
- Putri, D. 2012. Pemanfaatan Sirup Glukosa Hasil Hidrolisa Selulosa dari Kulit Buah Kedondong (*Spondias dulcis* Forst.) yang Dimanfaatkan Sebagai Pemanis pada Pembuatan Manisan dari Buah Lengkek (*Nephelium longanum*). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Rahayu, D.S., Dewi, K., dan Enny, F., 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrilhidrazil (DPPH) (Skripsi). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro, Semarang.

- Rivai, Harrizul, dkk. 2010. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Perolehan Ekstraktif, Kadar Senyawa Fenolat Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC.). Padang: Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas. *Majalah Obat Tradisional*. 15(1), 26 – 33.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata*. ITB. Bandung.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rohmaniyah, M. 2016. Uji Aktitivitas Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile B.*) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Sekripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim.
- 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.
- 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.
- Sangi M., dkk., 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. Vol. 1. Hal: 47-53.
- Sakari, G., dkk., 2010. Analysis of Serum Immunoglobulins Using Fourier Transform Infrared Spectral Measurements. *Biol. Med.* 2(3):42-48.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi. Liberty*. Yogyakarta. Hlm 35-36.
- Schiller, M. 2010. *Ethanol as a Solvent*. <http://www.easychem.com.au/production-of-materials/renewable-ethanol/ethanol-as-a-solvent>. 20 April 2015.
- Silverstein, Robert M., dkk., 2005. *Spectrometric Identification of Organic Coumpounds. Sevent Edition*. New York: John Wiley and Sons, INC.
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta : Lentera Hati.

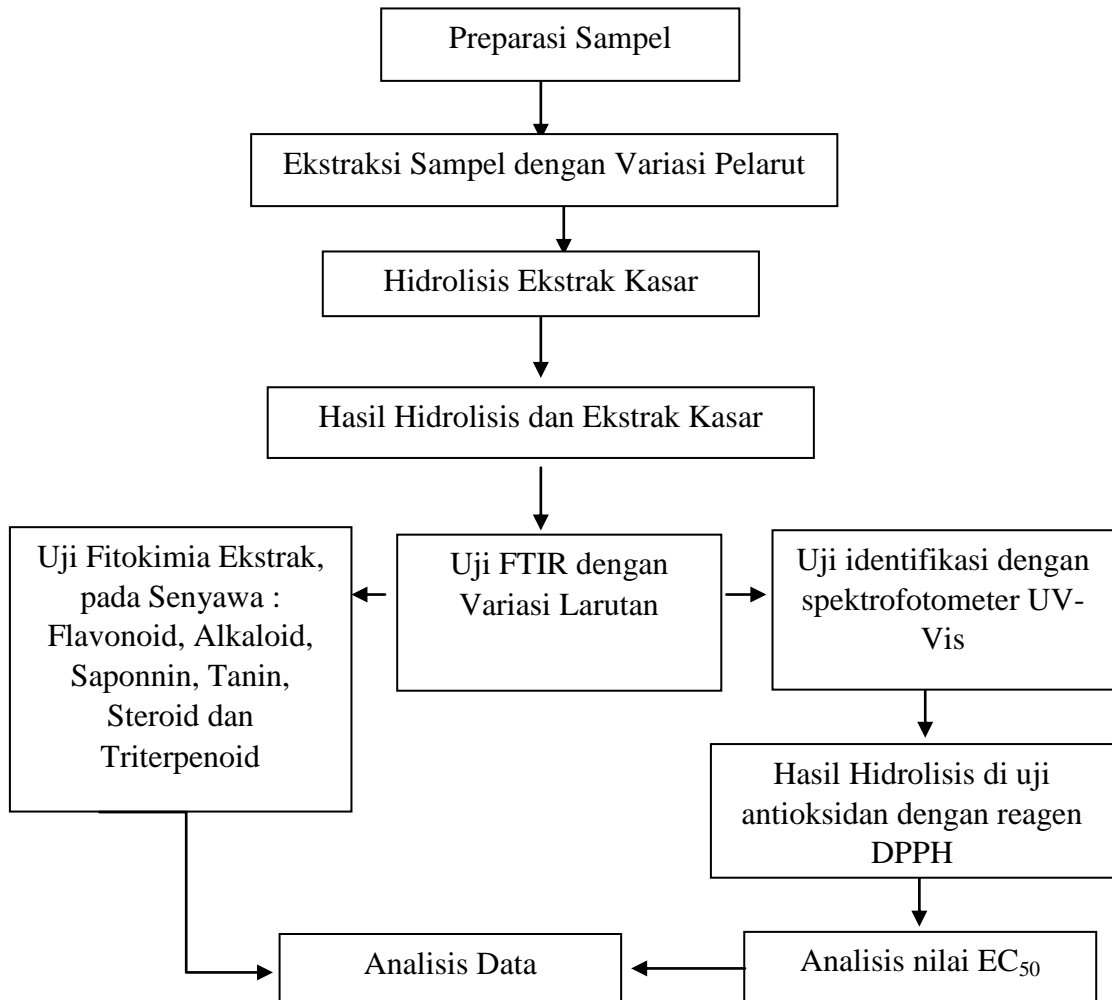
- Sie, Jessica Oeinitan. 2013. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Hasil Pengadukan Dan Reflux. Surabaya: Fakultas Farmasi Uninersitas Surabaya. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol.2 No.1.
- Sudarmadji. S. dkk. 2007. *Analisis bahan makanan dan pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudjadi, 1988. *Metode Pemisahan, hal 167-177*. Jogjakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sulistiyani dkk., 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br) (Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity of *Alstonia scholaris* R.Br Stem Bark Extract). *Journal Penelitian Hasil Hutan*. Vol. 35, No.3.
- Supriyanto, dkk., 2017. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadiracta indica* Juss). Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. *Pros iding SNATI F ke-4*. ISBN: 978-602-1180-50-1.
- Snyder, C.R., Kirkland, J.J., dan Glajach, J.L. 1997. *Practical HPLC Method Development Second Edition*. John Wiley and Sons, New York.
- Underwood,A.L and R.A Day,Jr. 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Verdiana, Melia, dkk, 2018. Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 7, No.4.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.
- Winarno dkk., 1973. *Ekstraksi, Kromatografi, dan Elektroforesis*. Bogor: Fatemeta, ITB.
- Wink, M. 2008. *Ecological Roles of Alkaloids*. Wink, M. (Eds.)*Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*,Wiley, Jerman: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA.
- Wulandari, NDM. 2005. Perbandingan Metode Ekstraksi Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrosarpa*) dan Uji Toksisitas Subkronis pada Tikus Putih.

Skripsi. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

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.

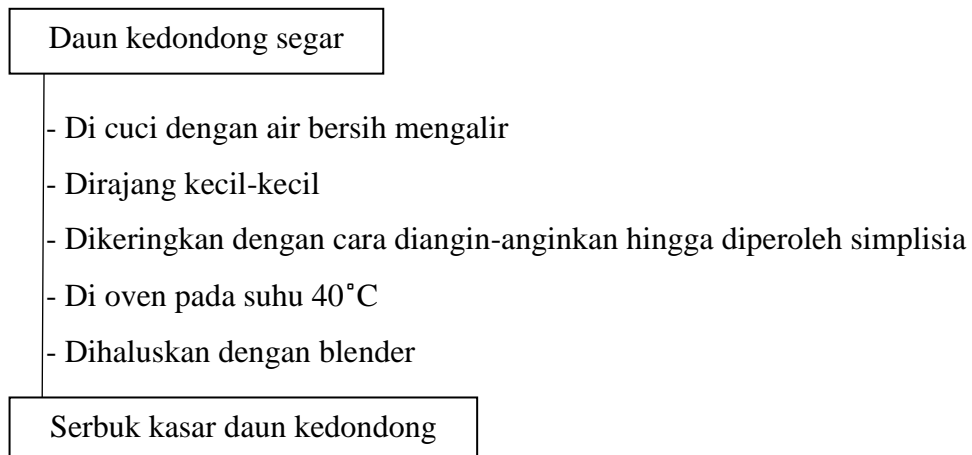
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

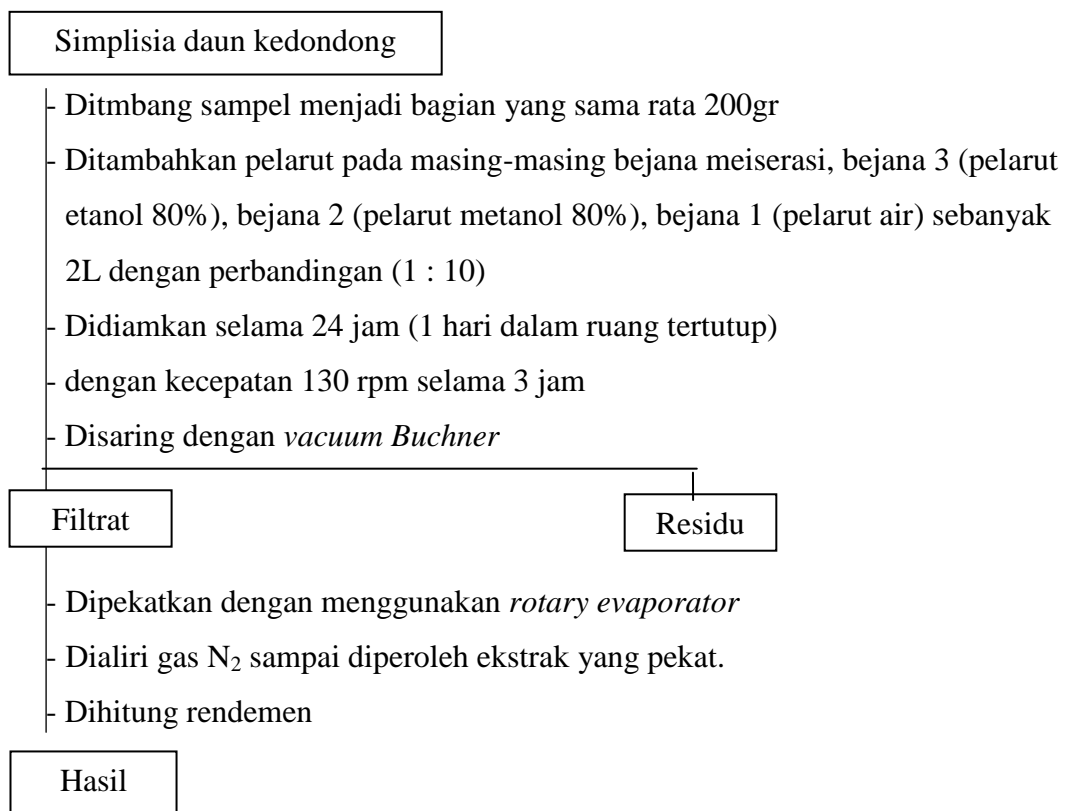


Lampiran 2. Skema Kerja

2.1 Preparasi Sampel



2.2 Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Maserasi



2.3 Hidrolisis Ekstrak

Ekstrak

- Dipekatkan dengan vacum rotary evaporator pada suhu 0°C
- Dihidrolisis menggunakan 2 N HCl (10 ml/g residu) selama 5 jam

Hidrolisat

- Dinetralkan dengan menggunakan NaHCO₃
- Diekstraksi dengan etil asetat dalam corong pisah untuk mendapatkan kuersetin
- Dianalisa dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

Hasil

2.4 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak kasar

- Diambil 2 mg ekstrak kasar masing-masing pelarut
- Dimasukkan dalam kuvet
- Diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 200 – 800 nm
- Diamati hasil

Hasil

2.5 Uji Fitokimia

A. Uji flavonoid

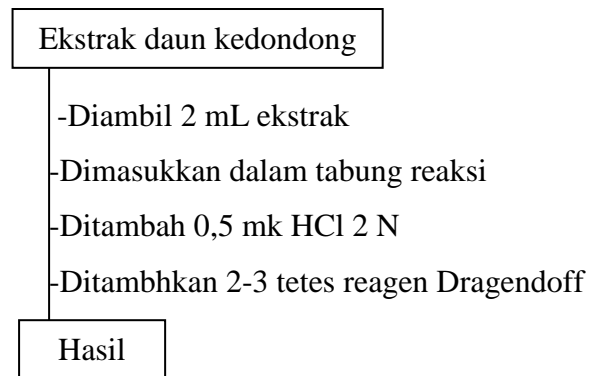
Ekstrak daun kedondong

- Diambil 2 mL ekstrak
- Dimasukkan dalam tabung reaksi
- Dilutkan dalam 2 mL etanol panas 50%
- Ditambah 0,1 gram serbuk logam Mg
- Ditambah 4-5 tetes HCl pekat

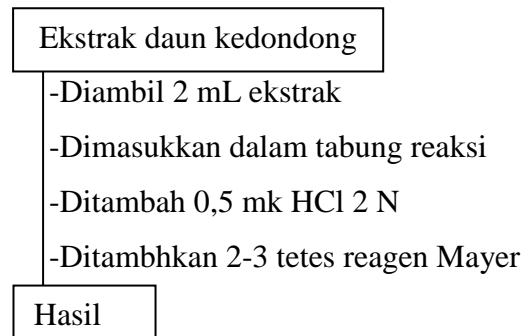
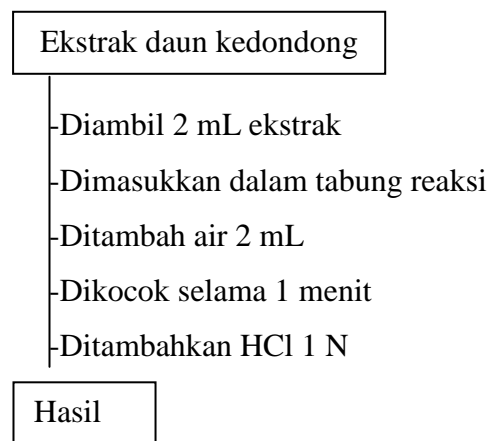
Hasil

B. Uji alkaloid

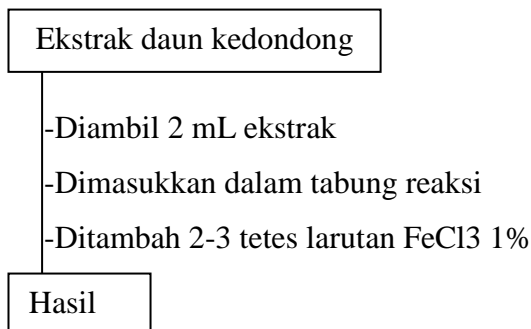
Reagen Dragendroff



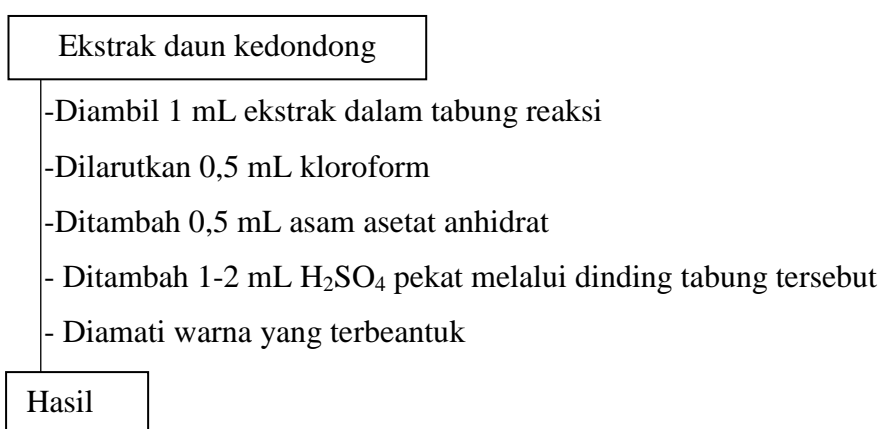
Reagen Mayer

**C. Uji saponin**

D. Uji tanin

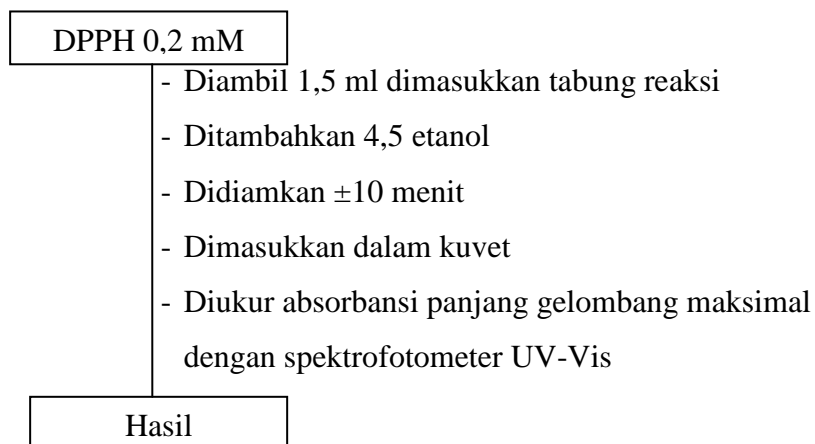


E. Uji steroid/triterpenoid

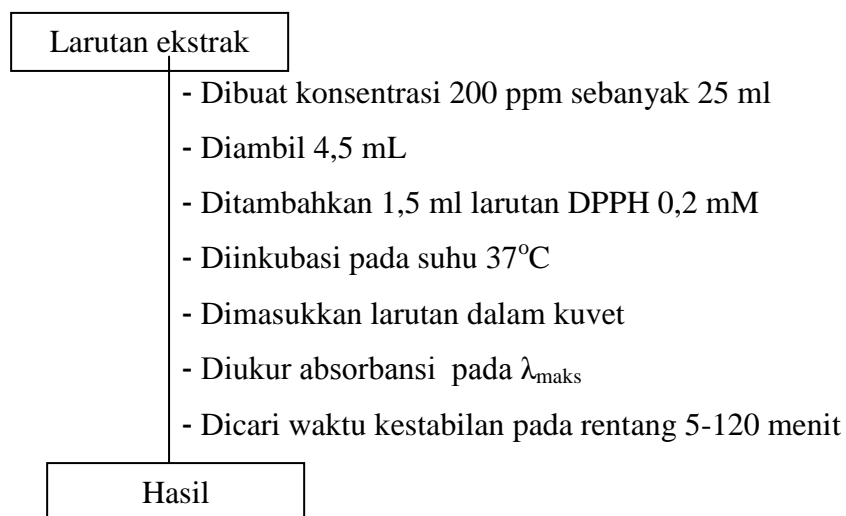


2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

A. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

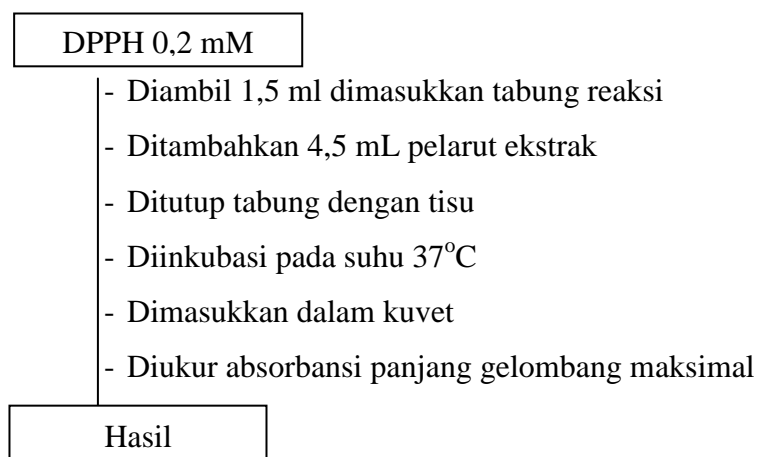


B. Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

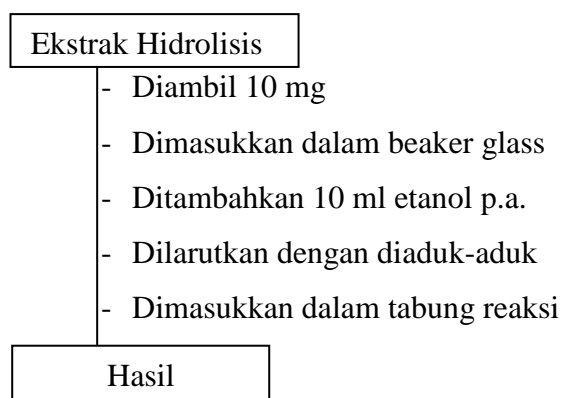


C. Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

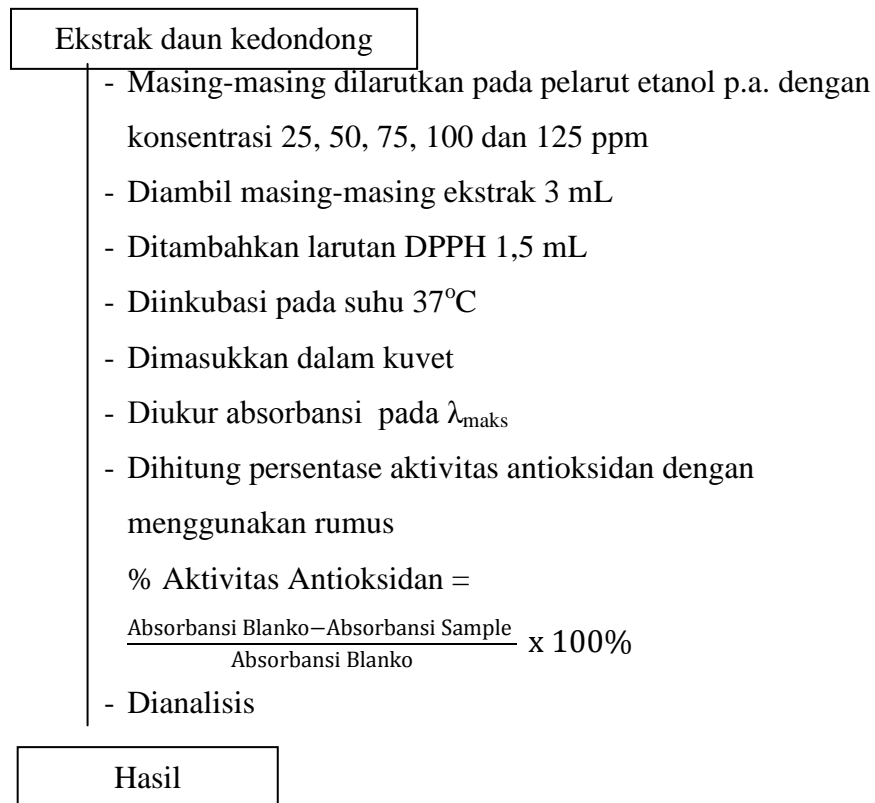
a. Absorbansi kontrol



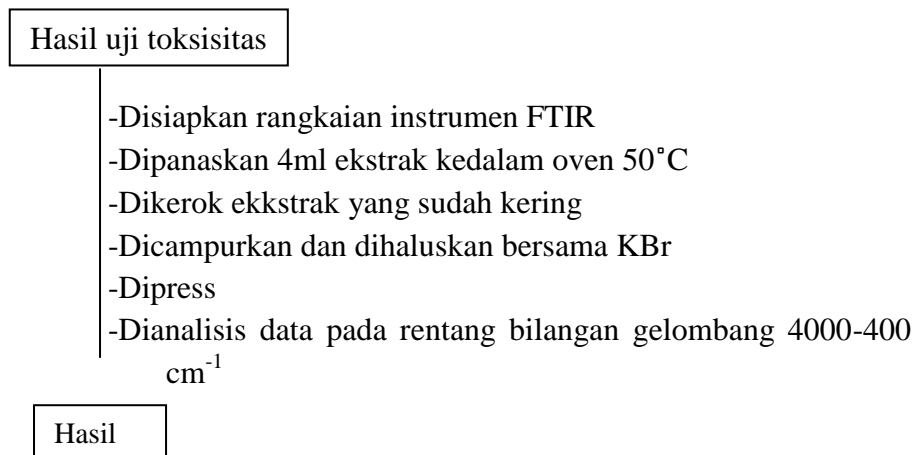
b. Pembuatan Larutan Stok



c. Absorbansi sampel dengan variasi konsentrasi



2.7 Identifikasi dengan FTIR



Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Pembuatan Reagen

A. Pembuatan Larutan HCl 2N dalam 50 mL

$$\text{Densitas} = 1,19 \text{ gr/mL}$$

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

$$\text{Volume} = 50 \text{ mL}$$

$$\text{Mr HCl} = 36,5 \text{ gr/mol}$$

$$2 \text{ N} \sim 2 \text{ M}$$

$$\text{Molaritas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= \frac{1 \times 37\% \times 119,0 \text{ g/mol}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

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

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

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

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

B. Pembuatan Larutan HCl 2%

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

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat HCl 2% diambil sebanyak 0,5 mL larutan HCl pekat 37%, dilarutkan dalam labu ukur 10 mL.

C. Pembuatan larutan Metanol 50%

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

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

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

Jadi untuk membuat metanol 50% diambil metanol 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. Reagen Mayer

- a. 1,358 g HgCl₂ dalam 60 mL akuades
- b. KI 5 mg dalam 10 mL akuades

Larutan a dituangkan ke dalam larutan b, diencerkan dengan akuades sampai 100 mL (HAM, 2006).

F. Reagen Dragendorff

Bi(NO₃),5H₂O sebanyak 8 gr dilarutkan dalam 50 mL HNO₃ pekat dan KI sebanyak 27,2 gr dilarutkan dalam 50 mL akuades, kedua larutan dicampur dan jika terbentuk endapan disaring, kemudian disimpan dalam botol coklat (HAM, 2006).

G. Reagen Liberman Burchard

Asam asetat anhidrat : 1 ml

Kloroform : 1 ml

Asam sulfat : 2 ml

H. Metanol 50%

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

$$99,8 \% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ ml}$$

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

Jadi untuk membuat larutan metanol 50% diambil sebanyak 5 ml larutan etanol 99,8% dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 ml.

I. Larutan NaHCO₃ Jenuh

Pembuatan larutan NaHCO₃ jenuh yaitu dengan melarutkan sebanyak 9,99gr serbuk NaHCO₃ dalam 100 ml akuades (sampai tidak terdapat endapan yang tidak larut). Kemudian disaring larutan NaHCO₃ untuk memisahkan residu dan filter sehingga diperoleh larutan NaHCO₃ jenuh.

J. Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol p.a.

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

$$\text{Mol DPPH} = 50 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 20 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}}$$

$$= 0,004 \text{ mmol}$$

$$\text{Mg DPPH} = 0,004 \text{ mmol} \times Mr \text{ DPPH}$$

$$= 0,004 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol}$$

$$= 1,58 \text{ mg} \sim 1,6 \text{ mg}$$

3.2 Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

A. Pembuatan antioksidan pembanding 1000 ppm

1000 ppm ekstrak dengan pelarut etanol p.a. atau pembanding = $\frac{\text{mg}}{0,01 \text{ L}} = 10\text{mg}$

B. pembuatan larutan sampel 125 ppm

$$V_2 = \frac{10\text{mL} \times 125 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 1,25 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 125 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 1,25 mL.

C. pembuatan larutan sampel 100 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 100 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 1 mL.

D. pembuatan larutan sampel 75 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 75 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 0,75 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 75 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 0,75 mL.

E. pembuatan larutan sampel 50 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 50 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 0,5 mL.

F. Pembuatan larutan sampel 25 ppm

$$V_2 = \frac{10 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 25 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 0,25 mL.

3.3 Menghitung Nilai Rendemen

$$\% \text{Rendemen Etanol} = \frac{8,9544 \text{ gr}}{50 \text{ gr}} \times 100 = 17,9088\%$$

$$\% \text{Rendemen Metanol} = \frac{7,4755 \text{ gr}}{50 \text{ gr}} \times 100 = 14,9088\%$$

$$\% \text{Rendemen Air} = \frac{22,5261 \text{ gr}}{50 \text{ gr}} \times 100 = 45,0522\%$$

Jenis Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
Etanol 80%	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman	8,96	17,91
Metanol 80%	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman	7,48	14,91
Air	Hijau Muda	Hijau Muda	22,52	45,05

3.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

1. Etanol

Konsentrasi	A1	A2	Absorbansi Rata-rata
Kontrol	0,5391	0,5731	0,5561
125 ppm	0,4564	0,4469	0,45165
Kontrol	0,5406	0,5325	0,53655
100 ppm	0,4741	0,4414	0,45775
Kontrol	0,5342	0,5302	0,5322
75 ppm	0,4679	0,4725	0,4702
Kontrol	0,5371	0,5230	0,53005
50 ppm	0,4818	0,4784	0,4801
Kontrol	0,5370	0,5228	0,5299
25 ppm	0,4731	0,4771	0,4751

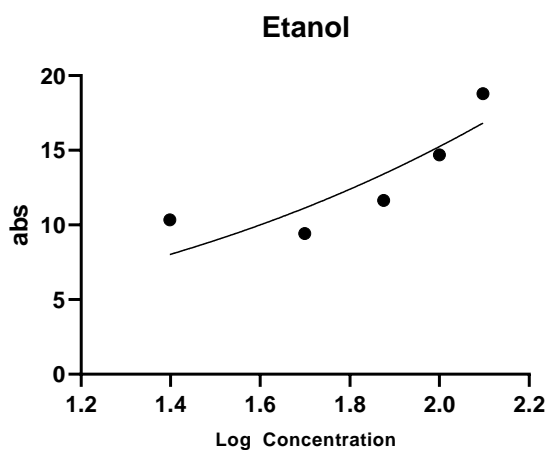
Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80%

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

Konsentrasi	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Aktivitas Antioksidan (y)	Log Konsentrasi (x)
125 ppm	0,5561	0,45165	18,7898	1.39794
100 ppm	0,53655	0,45775	14,6864	1.69897
75 ppm	0,5322	0,4702	11,64975	1.875061
50 ppm	0,53005	0,4801	9,4236	2
25 ppm	0,5299	0,4751	10,3415	2.09691

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	3,425	
HillSlope	0,5227	
EC50	2659	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	2,520 to +infinity	
HillSlope	-0,05453 to 1,366	
EC50	331,4 to ???	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R squared	0,7313	
Sum of Squares	15,59	
Sy.x	2,280	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
LogEC50	3,425	3,425
HillSlope	0,5227	0,5227
EC50	2659	2659
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	2,520 to +infinity	2,520 to +infinity
HillSlope	-0,05453 to 1,366	-0,05453 to 1,366
EC50	331,4 to ???	331,4 to ???
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R squared	0,7313	0,7313
Sum of Squares	15,59	15,59

Sy.x	2,280
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



2. Metanol

Konsentrasi	A1	A2	Absorbansi Rata-rata
Kontrol	0,5236	0,5140	0,5188
25 ppm	0,3992	0,3941	0,39665
Kontrol	0,5218	0,5157	0,51875
50 ppm	0,3503	0,3468	0,34855
Kontrol	0,5178	0,5145	0,51615
75 ppm	0,3231	0,3265	0,3248
Kontrol	0,5153	0,5134	0,51345
100 ppm	0,2913	0,2956	0,29345
Kontrol	0,5152	0,5116	0,5134
125 ppm	0,2858	0,2612	0,2735

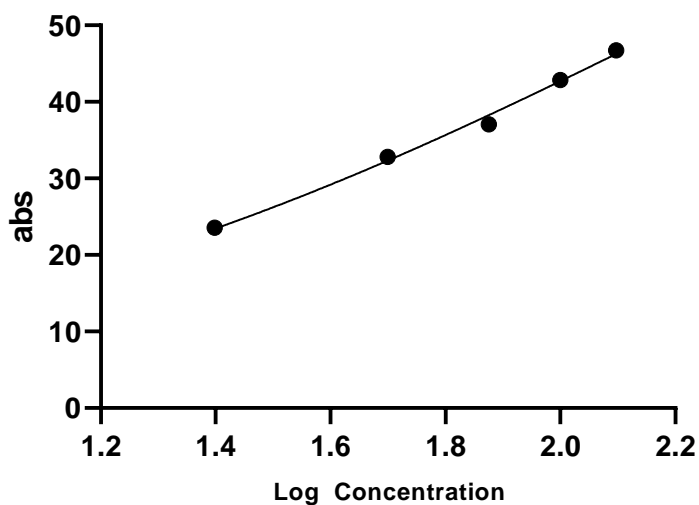
Aktivitas antioksidan ekstrak metanol 80%

Konsentrasi	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Aktivitas Antioksidan (y)	Log Konsentrasi (x)
25 ppm	0,5188	0,39665	23,5447	1.39794
50 ppm	0,51875	0,34855	32,8096	1.69897
75 ppm	0,51615	0,3248	37,0725	1.875061
100 ppm	0,51345	0,29345	42,8474	2
125 ppm	0,5134	0,2735	46,7277	2.09691

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)		
Preferred model		Models have the same DF
F (DFn, DFd)		Different curve for each data set
Different curve for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
LogEC50	2,198	
HillSlope	0,6431	
EC50	157,8	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	2,144 to 2,268	
HillSlope	0,5467 to 0,7425	
EC50	139,3 to 185,4	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R squared	0,9942	
Sum of Squares	1,910	
Sy.x	0,7980	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
LogEC50	2,198	2,198
HillSlope	0,6431	0,6431
EC50	157,8	157,8
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	2,144 to 2,268	2,144 to 2,268
HillSlope	0,5467 to 0,7425	0,5467 to 0,7425
EC50	139,3 to 185,4	139,3 to 185,4
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R squared	0,9942	0,9942
Sum of Squares	1,910	1,910
Sy.x		0,7980
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	

Transform of metanol



3. Air

Konsentrasi	A1	A2	Absorbansi Rata-rata
Kontrol	0,5572	0,5515	0,55435
25 ppm	0,4760	0,4744	0,4752
Kontrol	0,5569	0,5487	0,5528
50 ppm	0,4833	0,4552	0,46925
Kontrol	0,5564	0,5467	0,55155
75 ppm	0,4768	0,4774	0,4771
Kontrol	0,5534	0,5456	0,5495
100 ppm	0,4466	0,4428	0,4447
Kontrol	0,5520	0,5434	0,5430
125 ppm	0,4405	0,4392	0,43985

Aktivitas antioksidan ekstrak air

Konsentrasi	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Aktivitas Antioksidan (y)	Log Konsentrasi (x)
25 ppm	0,55435	0,4752	14,2780	1.39794
50 ppm	0,5528	0,46925	15,1140	1.69897
75 ppm	0,55155	0,4771	13,4983	1.875061
100 ppm	0,5495	0,4447	19,0718	2
125 ppm	0,5430	0,43985	18,9963	2.09691

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate

Different curve for each data set

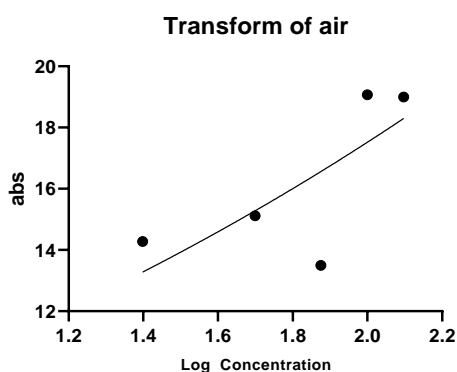
One curve for all data sets

Models have the same DF

Different curve for each data set

Different curve for each data

set			
Best-fit values			
Bottom	= 0,000		
Top	= 100,0		
LogEC50	4,848		
HillSlope	0,2363		
EC50	7044,2		
Span	= 100,0		
95% CI (profile likelihood)			
LogEC50	2,877 to +infinity		
	-0,1661 to		
HillSlope	0,7089		
EC50	752,5 to ???		
Goodness of Fit			
Degrees of Freedom	3		
R squared	0,5290		
Sum of Squares	13,30		
Sy.x	2,106		
Constraints			
Bottom	Bottom = 0		
Top	Top = 100		
One curve for all data sets			
Best-fit values			
Bottom	= 0,000		
Top	= 100,0		
LogEC50	4,848		4,848
HillSlope	0,2363		0,2363
EC50	7044,2		70442
Span	= 100,0		
95% CI (profile likelihood)			
LogEC50	2,877 to +infinity		2,877 to +infinity
	-0,1661 to		
HillSlope	0,7089		-0,1661 to 0,7089
EC50	752,5 to ???		752,5 to ???
Goodness of Fit			
Degrees of Freedom			3
R squared	0,5290		0,5290
Sum of Squares	13,30		13,30
Sy.x			2,106
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		



3.5 Hasil Uji Spektrofotometer UV-Vis

1. Lamdha Maks Ekstrak Etanol Daun Kedondong

Tanggal Analisa : 01 April 2021

Scan Analysis Report

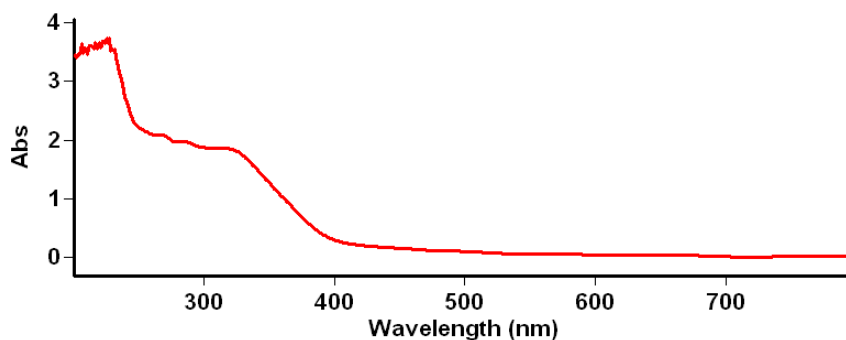
Report Time : Thu 01 Apr 02:07:14 PM 2021

Method:

Batch: D:\Afafa\Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Etanol (01-04-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika



Sample Name: Ekstrak Etanol

Collection Time 4/1/2021 2:07:19 PM

Peak Table

Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	799.9nm to 200.1nm

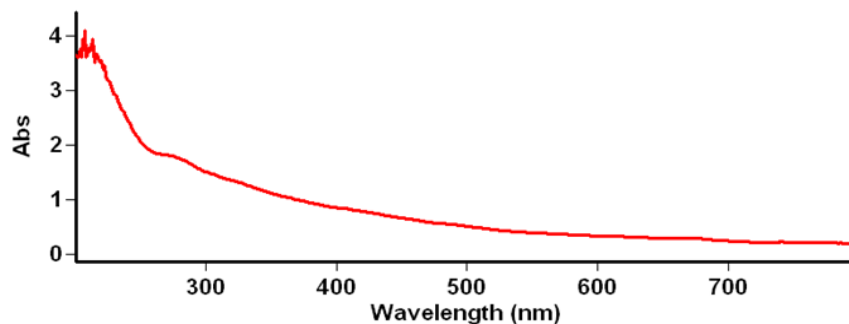
Wavelength (nm)	Abs
-----------------	-----

282.9	1.983
229.0	3.577
227.1	3.735
225.0	3.741
222.1	3.691
219.1	3.659
215.9	3.660
212.9	3.602
207.9	3.579
206.0	3.646

203.1 3.468
201.0 3.463

2. Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Etanol Hidrolisis

Tanggal Analisa : 01 April 2021



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 01 Apr 02:14:18 PM 2021

Method:

Batch: D:\Afafa\Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Etanol Hidrolisis (01-04-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Etanol Hidrolisis

Collection Time 4/1/2021 2:14:25 PM

Peak Table

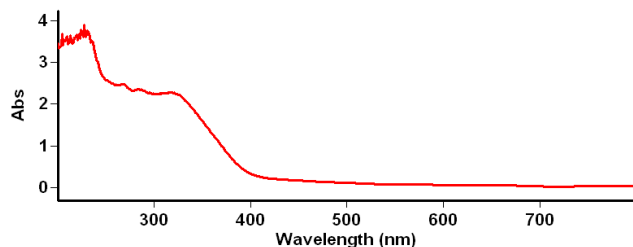
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 799.9nm to 200.1nm

Wavelength (nm) Abs

222.1	3.436
219.1	3.541
215.0	3.663
212.9	3.929
210.0	3.775
207.0	4.089
204.9	3.941
203.1	3.757

3. Lamdha Maks Ekstrak Metanol Daun Kedondong

Tanggal Analisa : 01 April 2021



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 01 Apr 02:09:52 PM 2021

Method:

Batch: D:\Afafa\Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Metanol (01-04-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Metanol

Collection Time 4/1/2021 2:09:57 PM

Peak Table

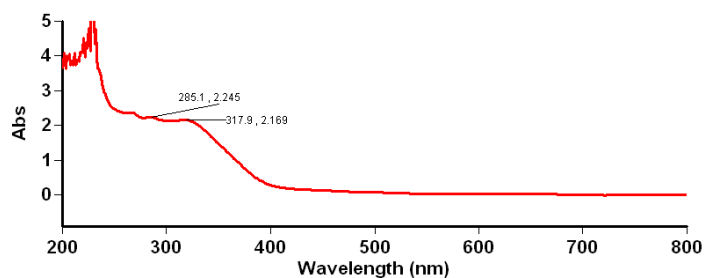
Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 799.9nm to 200.1nm

Wavelength (nm) Abs

Wavelength (nm)	Abs
321.0	2.275
316.0	2.277
284.0	2.356
268.0	2.485
235.1	3.524
230.1	3.770
227.1	3.902
223.9	3.785
222.1	3.692
219.1	3.673
212.9	3.651
211.1	3.541
209.0	3.628
206.0	3.548
204.0	3.692

4. Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Metanol Hidrolisis

Tanggal Analisa : 07 April 2021



Scan Analysis Report

Sample Name: Ekstrak Metanol Hidrolisis

Collection Time 4/7/2021 3:28:20 PM

Peak Table

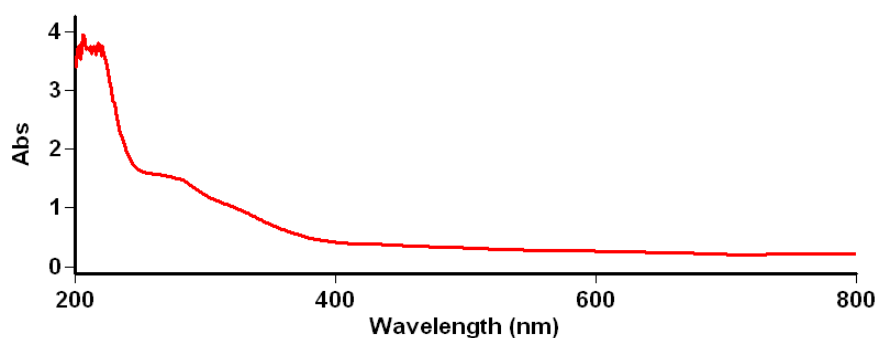
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm) Abs

317.9	2.169
285.1	2.245
266.1	2.374
235.0	3.648
232.0	4.762
230.0	10.000
225.0	4.805
223.1	4.392
219.9	4.522
217.0	4.107
215.1	3.918
211.9	4.083
209.0	3.866
207.1	4.064
203.9	4.007
202.0	4.082

5. Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Air

Tanggal Analisa : 22 April 2021



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 22 Apr 02:59:17 PM 2021

Method:

Batch: D:\Afafa\Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Air (22-04-2021).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Air

Collection Time 4/22/2021 2:59:40 PM

Peak Table

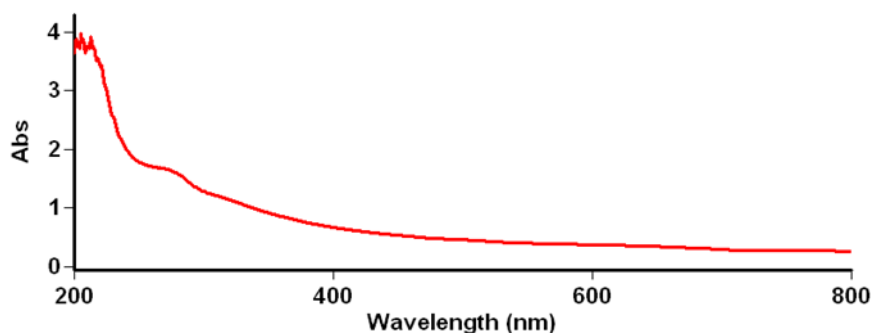
Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.1nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
-----------------	-----

786.0	0.224
221.0	3.749
218.0	3.815
214.1	3.747
212.0	3.754
209.0	3.723
207.0	3.939
203.1	3.763

6. Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Air Hidrolisis

Tanggal Analisa : 22 April 2021



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 22 Apr 03:02:09 PM 2021

Method:

Batch: D:\Afafa\Lamdha Maks Daun Kedondong Ekstrak Air Hidrolisis (22-04-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Hidrolisis Air

Collection Time 4/22/2021 3:02:15 PM

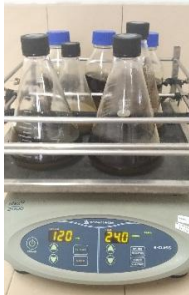
Peak Table

Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.1nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
221.0	3.432
218.0	3.554
215.0	3.727
213.0	3.910
210.9	3.765
207.0	3.873
205.0	3.971
202.0	3.871

Lampiran 4. Gambar

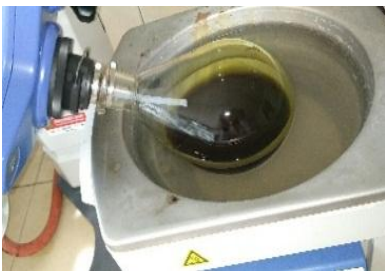
4.1 Ekstraksi



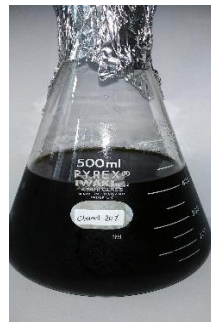
Dishaker



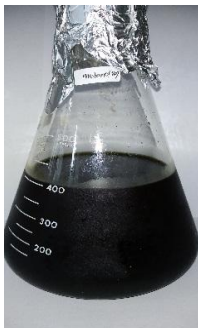
Penyaringan dengan *vacuum Buchner*



Dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*



Ekstrak etanol

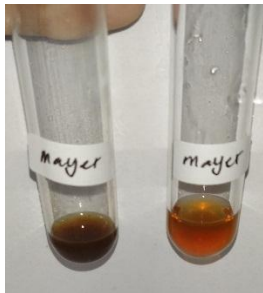


Ekstrak metanol

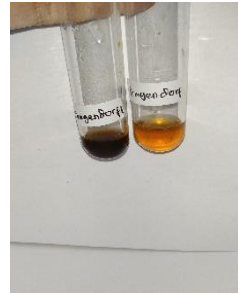


Ekstrak air

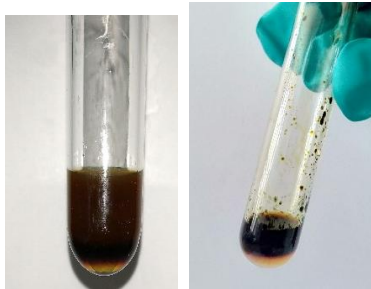
4.2 Uji Fitokimia



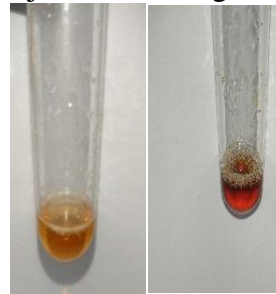
Uji alkaloid dengan reagen Mayer



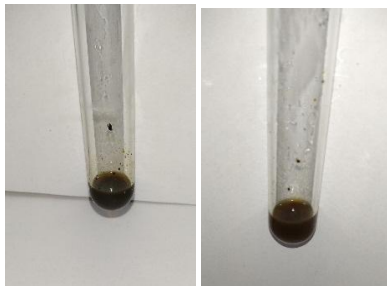
Uji alkaloid dengan reagen Dragendroff



Uji triterpenoid dan steroid



Uji flavonoid



Uji tanin

4.3 Uji DPPH



Ekstrak Metanol



Ekstrak Etanol



Ekstrak air

Lampiran 4. RA
Risk Assesment

LEMBAR IDENTIFIKASI BAHAYA DAN PENILAIAN RESIKO
KEGIATAN PENELITIAN MAHASISWA

JURUSAN KIMIA FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG		IDENTIFIKASI BAHAYA DAN PENILAIAN RESIKO		PENELITIAN		
				Jumlah halaman : 4		
JUDUL PENELITIAN : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kedondong (<i>Spondias dulcis</i>) dengan Metode DPPH						
No	Tahapan Kerja Penelitian	Potensi Bahaya	Upaya Pengendalian	Level		Tingkat Bahaya (R x P)
				Resiko (R)	Peluang (P)	
1.	Preparasi sampel daun kedondong	<ul style="list-style-type: none"> Tangan akan terasa panas apabila mengoven daun kedondong 	<ul style="list-style-type: none"> Menggunakan sarung tangan 	1	2	2
2.	Ekstraksi maserasi daun kedondong dengan variasi pelarut (air, metanol dan etil asetat)	<ul style="list-style-type: none"> Air tumpah dan pemanasan yang berlebih 	<ul style="list-style-type: none"> Berhati-hati saat mengambil air Mengecek suhu setiap saat 	1	1	1
		<ul style="list-style-type: none"> Etanol dan metanol mudah terbakar, membentuk campuran yang dapat meledak di udara pada suhu kamar. Jika kontak dengan kulit akan menyebabkan iritasi pada kulit atau bahaya efek tetap sangat serius. Kontak dengan mata menyebabkan resiko iritasi dan kebutaan. Terhirup menyebabkan gejala iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Setelah tertelan dapat mengakibatkan mual, muntah, kerusakan pada liver, ginjal dan jantung karena sifatnya toksik. 	<ul style="list-style-type: none"> Tutup rapat di dalam tempat yang berventilasi baik, jauhkan dari sumber nyala dan panas. Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak sekitar 10 menit dengan kelopak mata terbuka lebar, segera hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, beri nafas buatan, berikan masker, oksigen jika diperlukan. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak, hindari muntah (resiko perforasi), segera hubungi dokter. 	3	2	6
			<ul style="list-style-type: none"> Menggunakan APD yang lengkap 			

3	Hidrolisis ekstrak dengan HCl 2 N	<ul style="list-style-type: none"> • HCl 2N bersifat asam kuat. • Jika kontak dengan kulit akan menyebabkan iritasi pada kulit atau bahaya efek tetap sangat serius. Kontak dengan mata menyebabkan resiko iritasi dan kebutaan. Terhirup menyebabkan gejala iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Setelah tertelan dapat mengakibatkan mual, muntah, kerusakan pada liver, ginjal dan jantung karena sifatnya toksik. • <i>Rotarry evaporator</i> mudah pecah jika tidak berhati-hati. 	<ul style="list-style-type: none"> • Segera bersihkan tempat dengan air dan tisu • Buang sisa pecahan gelas • Kontak dengan mata : Segera bilas mata dengan banyak air selama \pm 15 menit dan meminta bantuan medis • Kontak dengan kulit : Basuh dengan banyak air selama \pm 15 menit dan lepas pakaian yang terkontaminasi. Jika serius, cuci tangan dengan desinfektan dan olesi dengan krim antibakteri, lalu hubungi pihak medis • Terhirup : Hirup udara segar. Jika sulit bernapas, berikan oksigen dan meminta bantuan medis • Tertelan : Jangan dimuntahkan secara sengaja tanpa arahan dari petugas medis. Jika, tidak sadarkan diri jangan berikan apapun lewat mulut dan longgarkan pakaian yang ketat • Gunakan APD yang sesuai • Berhati-hati menggunakan rotarry evaporator 	2	1	2
3.	Uji Fitokimia	<ul style="list-style-type: none"> • Jika terhirup kloroform dapat menyebabkan iritasi pada membran mukosa, batuk dan dyspnea. Kontak dengan kulit dapat menyebabkan iritasi. Kontak dengan mata menyebabkan resiko kebutaan. Setelah tertelan akan menyebabkan rasa terbakar dalam mulut, tenggorokan dan akan menyebabkan mual, muntah, dan kerusakan pada liver, ginjal dan jantung. • Asam asetat anhidrat • Cairan mudah terbakar. Jika kontak dengan kulit dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan rasa terbakar. Kontak dengan mata menyebabkan terjadinya iritasi dan kebutaan. Terhirup menyebabkan terjadinya iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. • Asam sulfat (H₂SO₄) • Jika kontak dengan kulit dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan rasa terbakar. Kontak dengan mata menyebabkan terjadinya iritasi dan 	<ul style="list-style-type: none"> • Terhirup Kloroform: hirup udara segar, hubungi dokter. Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak sekitar 10 menit dengan kelopak mata terbuka lebar, segera hubungi dokter mata. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak, hindari muntah (resiko perforasi), segera hubungi dokter • Asam asetat anhidrat • Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak. • Asam sulfat (H₂SO₄) • Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas 	3	2	6

		<p>kebutaan. Terhirup menyebabkan terjadinya iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Asam klorida (HCl) • Jika kontak dengan kulit dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan rasa terbakar. Kontak dengan mata menyebabkan terjadinya iritasi dan kebutaan. Terhirup menyebabkan terjadinya iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Tertelan menyebabkan rasa terbakar di mulut, tenggorokan dan saluran gastrointestinal. • Jika terhirup reagen Dragendorff dan Mayer menyebabkan inhalasi, gejala iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Kontak dengan kulit dapat menyebabkan iritasi pada kulit atau bahaya efek tetap yang sangat serius. Kontak dengan mata menyebabkan terjadinya iritasi dan kebutaan. Setelah tertelan dapat mengakibatkan mual, muntah, kerusakan pada liver, ginjal, dan jantung karena bersifat toksik. • Jika terhirup FeCl₃ menyebabkan inhalasi, gejala iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Kontak dengan kulit dapat menyebabkan iritasi pada kulit atau bahaya efek tetap yang sangat serius. Kontak dengan mata menyebabkan terjadinya iritasi dan kebutaan. Setelah tertelan dapat mengakibatkan mual, muntah, kerusakan pada liver, ginjal, dan jantung karena bersifat toksik. 	<p>dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Asam klorida (HCl) • Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak. • Terhirup reagen Dragendorff dan Mayer: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak. • Terhirup FeCl₃: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak. • Menggunakan APD yang lengkap. 			
--	--	--	--	--	--	--

4.	Uji aktivitas antioksidan daun kedondong dengan metode DPPH	<ul style="list-style-type: none"> • Etanol, Metanol dan Etil Asetat Jika kontak dengan kulit akan menyebabkan iritasi pada kulit atau bahaya efek tetap sangat serius. Kontak dengan mata menyebabkan resiko iritasi dan kebutaan. Terhirup menyebabkan gejala iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Setelah tertelan dapat mengakibatkan mual, muntah, kerusakan pada liver, ginjal dan jantung karena sifatnya toksik. • DPPH Jika kontak dengan kulit akan menyebabkan iritasi pada kulit atau bahaya efek tetap sangat serius. Kontak dengan mata menyebabkan resiko iritasi dan kebutaan. Terhirup menyebabkan gejala iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Setelah tertelan dapat mengakibatkan mual, muntah, kerusakan pada liver, ginjal dan jantung karena sifatnya toksik. Mudah terbakar. 	<ul style="list-style-type: none"> • Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak sekitar 10 menit dengan kelopak mata terbuka lebar, segera hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, beri nafas buatan, berikan masker, oksigen jika diperlukan. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak, hindari muntah (resiko perforasi), segera hubungi dokter • Menggunakan APD yang lengkap 	3	2	6
5.	Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis	<ul style="list-style-type: none"> • Etanol, Metanol dan Etil Asetat Jika kontak dengan kulit akan menyebabkan iritasi pada kulit atau bahaya efek tetap sangat serius. Kontak dengan mata menyebabkan resiko iritasi dan kebutaan. Terhirup menyebabkan gejala iritasi saluran pernapasan, pusing dan sakit kepala. Setelah tertelan dapat mengakibatkan mual, muntah, kerusakan pada liver, ginjal dan jantung karena sifatnya toksik. 	<ul style="list-style-type: none"> • Etanol, Metanol dan Etil Asetat Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak sekitar 10 menit dengan kelopak mata terbuka lebar, segera hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, beri nafas buatan, berikan masker, oksigen jika diperlukan. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak, hindari muntah (resiko perforasi), segera hubungi dokter. • Menggunakan APD yang lengkap 	3	2	6
6.	Identifikasi dengan Spektrofotometer FTIR	<ul style="list-style-type: none"> • KBr Jika kontak dengan KBr terlalu banyak akan menyebabkan inhalasi 	<ul style="list-style-type: none"> • Gunakan APD yang sesuai • Kontak dengan kulit : basuh dengan air selama \pm 15 menit Terhirup : hirup udara segar. Jika sulit bernapas, berikan oksigen dan meminta bantuan medis 	1	1	1

KETERANGAN		PELUANG - merupakan suatu nilai yang ditetapkan untuk menentukan tingkat frekuensi terhadap kejadian kecelakaan kerja	
RESIKO - merupakan suatu nilai yang ditetapkan untuk menentukan suatu tingkatan dampak/akibat berdasarkan keparahan yang disebabkan oleh kecelakaan kerja		Level : Hampir tidak pernah terjadi	
Level 1	: Tidak ada cedera, kerugian biaya rendah, kerusakan peralatan ringan	Level 1	: Frekuensi kejadian jarang terjadi waktu tahunan
Level 2	: Cedera ringan (hanya membutuhkan P3K), peralatan rusak ringan	Level 2	: Frekuensi kejadian sedang dalam waktu bulanan
Level 3	: Menyebabkan cedera yang memerlukan perawatan medis ke rumah sakit, peralatan rusak sedang	Level 3	: Hampir 100 % terjadi kejadian tersebut
Level 4	: Menyebabkan cedera yang menyebabkan cacatnya anggota tubuh permanen, peralatan rusak berat	Level 4	: 100 % kejadian pasti terjadi
Level 5	: Menyebabkan korban jiwa (kematian), peralatan rusak berat	Level 5	
TINGKAT BAHAYA - merupakan hasil perkalian dari Resiko (R) dan Peluang (P) sebagai tetapan tingkat bahaya dari suatu pekerjaan yang dilakukan			
SKO	1-4	Rendah	Masih dapat ditoleransi
R:	5-10	Sedang	Dikendalikan sampai batas toleransi
	11-25	Tinggi	Pemeriksaan intensif dan pengendalian

	divusun oleh :	telah diperiksa oleh :		telah disetujui oleh :
	Afafa Amir Rosyidah	Pembimbing I	Pembimbing II	Ketua Jurusan
Tanggal	7 Juli 2020	7 Juli 2020	7 Juli 2020	7 Juli 2020
Tanda Tangan				
Nama	Afafa Amir Rosyidah	Ruchmi Ningsih, M.Si	Oky Bagus Prasetyo, M. Si	Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIM/NIP	16630037	NIP. 198106112003012011	NIDT. 198901132 01180201 1 244	NIP. 19790620 200604 2 002