

**IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL EKSTRAKSI DAUN  
KATUK (*Sauropus androgynous* L. Merr) FRAKSI ETIL ASETAT DAN  
UJI ANTIOKSIDAN METODE DPPH**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
RODOH NOFITASARI  
NIM. 17630092**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL EKSTRAKSI DAUN  
KATUK (*Sauropus androgynous (L) Merr*) FRAKSI ETIL ASETAT DAN  
UJI ANTIOKSIDAN METODE DPPH**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
RODOH NOFITASARI  
NIM. 17630092**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL EKSTRAKSI DAUN  
KATUK (*Sauropus androgynous* L. Merr) FRAKSI ETIL ASETAT DAN  
UJI ANTIOKSIDAN METODE DPPH**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
RODOH NOFITASARI  
NIM. 17630092**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 15 juni 2022**

**Pembimbing I**



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

**Pembimbing II**



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

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**



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

**IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL EKSTRAKSI DAUN  
KATUK (*Sauropus androgynous (L) Merr*) FRAKSI ETIL ASETAT DAN  
UJI ANTIOKSIDAN METODE DPPH**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
RODOH NOFITASARI  
17630092**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan  
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal : 15 Juni 2022**

**Ketua Penguji : Dr. Anton Prasetyo, M.Si  
NIP. 19770925 200604 1 003**



**Anggota Penguji I : Ahmad Hanapi, M.Sc  
NIDT. 19851225 20160801 1 069**



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



**Anggota Penguji III : A. Ghanaim Fasya, M.Si  
NIP. 19820616 200604 1002**



**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**



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

## PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

:

Saya yang bertandatangan dibawah ini;

Nama : Rodoh Nofitasari

NIM : 17630092

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil Ekstraksi Daun Katuk  
(*Sauropus androgynous (L) Merr*) Fraksi Etil Asetat Dan  
Uji Antioksidan Metode DPPH

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

Malang 15 juni 2022  
Yang membuat pernyataan,



Rodoh Nofitasari  
NIM. 17630092

## MOTTO

***Gantungkan cita-citamu setinggi langit! Bermimpilah setinggi langit. Jika engkau jatuh, engkau akan jatuh di antara bintang-bintang.***

*“Ir Soekarno”*

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

*Alhamdulillahirobbil'alamin..*

Sujud syukur dan segala puji tiada henti kepada Allah SWT yang telah menggariskan takdir terbaik dari butiran-butiran harapan yang selalu dipanjatkan sehingga tugas akhir saya yang masih jauh dari kata sempurna ini dapat terselesaikan dengan baik.

Kupersembahkan karya sederhana ini untuk: kedua orang tuaku (Bapak Komarudin dan Ibu Ooh Maskuroh) yang amat sangat aku sayangi yang telah memberi kasih sayang, doa, dorongan, kekuatan dan ridho yang tiada henti hingga saya dapat sampai pada titik ini.

Kepada myself yang telah bertahan dan berjuang dalam menulis karya ini, dan abang ku yang selalu memberikan penyemangat dan selalu menjadi motivasi saya untuk sukses. Serta seluruh keluarga besar saya yang selalu memotivasi saya untuk menyelesaikan karya kecil ini.

## KATA PENGANTAR

*Alahamdulillah* *bill'allamin*, puji syukur yang senantiasa kami panjatkan kehadirat Allah SWT. karena berkat rahmat, karunia, taufik serta hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi. Selawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. Skripsi yang berjudul "Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil Ekstraksi Daun Katuk (*Sauropus Androgynous* L. Merr) Fraksi Etil Asetat dan Uji Antioksidan Metode DPPH"

Skripsi merupakan salah satu tugas akhir studi yang harus ditempuh sebagai syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) diprogram studi kimia fakultas sains dan teknologi universitas Islam negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penyusun skripsi ini menyadari bahwa selama berlangsungnya penelitian, serta pada tahap penyelesaian skripsi ini, tak terlepas bantuan dan kerjasama berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak, ibu dan kakak penulis yang senantiasa selalu mendukung serta memotivasi baik dari segi waktu, materi dan tenaga
2. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang serta selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi dengan baik.
5. Bapak Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi.
6. Keluarga besar penulis yang telah memberikan dukungan serta do'a.
7. Seluruh dosen Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana, dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun guna menyelesaikan skripsi. Teriring do'a



dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penyusun mendapatkan balasan yang baik dari Allah SWT. Aamiin.

8. Seluruh teman-teman kuliah Neon 17, teman penelitian di laboratorium (Mita Wahyuning Tyas, Maulida, Arni, Idea, Lutfi, Taufik, dan Vicky), bahan alam squad, sauna squad dan upallll squad (Kara, Mita, Maulida, Aini, Aisyah, Ufilia, Uun dan lain-lain) yang turut memberikan kontribusi secara langsung dan tidak langsung.

Penyusun menyadari atas terbatasnya ilmu yang dimiliki, Skripsi ini tentu jauh dari kata sempurna, untuk itu penyusun dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga penelitian ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi semua.

Malang, 15 Juni 2022

Penyusun

## DAFTAR ISI

|  |      |
|--|------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                     | i    |
| <b>HALAMAN PERSETUJUAN TUGAS AKHIR</b> .....   | ii   |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....                 | iii  |
| <b>PERNYATAN KEASLIAN TULISAN</b> .....        | iv   |
| <b>MOTTO</b> .....                             | v    |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....               | vi   |
| <b>KATA PENGANTAR</b> .....                    | vii  |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                        | ix   |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....                   | xi   |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                      | xii  |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                     | xiii |
| <b>ABSTRAK</b> .....                           | xiv  |
| <b>ABSTRACT</b> .....                          | xv   |
| <b>ملخص البحث</b> .....                        | xvi  |
| <br>   |      |
| <b>BAB I PENDAHULUAN</b>                       |      |
| 1.1 Latar belakang .....                       | 1    |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                      | 4    |
| 1.3 Tujuan .....                               | 5    |
| 1.4 Batasan Masalah .....                      | 5    |
| 1.5 Manfaat .....                              | 6    |
| <br>   |      |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>                 |      |
| 2.1 Tanaman Katuk .....                        | 7    |
| 2.1.1 Morfologi Tanaman Katuk .....            | 7    |
| 2.1.2 Kandungan Daun Katuk .....               | 8    |
| 2.2 Flavonoid .....                            | 9    |
| 2.3 Ekstraksi Bahan Alam .....                 | 10   |
| 2.4 Hidrolisis dan Partisi .....               | 12   |
| 2.5 Uji fitokimia .....                        | 14   |
| 2.6 Monitoring KLT .....                       | 14   |
| 2.7 Uji Antioksidan Metode DPPH .....          | 16   |
| 2.8 Identifikasi Spektrofotometer UV-Vis ..... | 17   |
| 2.9 Identifikasi Spektrofotometer IR .....     | 18   |
| <br>   |      |
| <b>BAB III METODOLOGI</b>                      |      |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....          | 20   |
| 3.2 Alat dan Bahan .....                       | 20   |
| 3.2.1 Alat .....                               | 20   |
| 3.2.2 Bahan .....                              | 20   |
| 3.3 Rencana Penelitian .....                   | 21   |
| 3.4 Prosedur Kerja .....                       | 22   |
| 3.5 Pelaksanaan Penelitian .....               | 22   |
| 3.5.1 Preparasi Sampel .....                   | 22   |

|  |    |
|--|----|
| 3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik Daun Katuk .....                                      | 22 |
| 3.5.3 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Etanol Daun Katuk.....                | 23 |
| 3.5.4 Uji Fitokimia (Senyawa Flavonoid) .....                                    | 23 |
| 3.5.5 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTA .....                                | 24 |
| 3.5.6 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTP.....                                 | 24 |
| 3.5.7 Uji Antioksidan Isolat Flavonoid .....                                     | 25 |
| 3.5.8 Identifikasi Spektrofotometer UV-Vis .....                                 | 26 |
| 3.5.9 Identifikasi Spektrofotometer IR .....                                     | 27 |
| <br><b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>   |    |
| 4.1 Preparasi Sampel.....  | 28 |
| 4.2 Ekstraksi Sampel.....  | 29 |
| 4.3 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Etanol Daun Katuk.....                  | 29 |
| 4.4 Uji Fitokimia (Senyawa Flavonoid).....                                       | 31 |
| 4.5 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTA .....                                  | 32 |
| 4.6 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTP .....                                  | 36 |
| 4.7 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV-<br>Vis ..... | 38 |
| 4.8 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan FTIR .....                        | 39 |
| 4.9 Uji Antioksidan Daun Katuk.....  | 42 |
| 4.10 Integrasi Penelitian dalam Perspektif Islam.....                            | 46 |
| <br><b>BAB V PENUTUP</b>   |    |
| 5.1 Kesimpulan .....   | 49 |
| 5.2 Saran.....   | 49 |
| <br><b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....  | 50 |
| <b>LAMPIRAN</b> .....  | 55 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| Lampiran 1. Skema Kerja ..... | 55 |
|-------------------------------|----|

## DAFTAR TABEL

|   |    |
|---|----|
| Tabel 2.1 Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap .....                      | 11 |
| Tabel 2.2 Tingkat kekuatan antioksidan .....                                    | 17 |
| Tabel 4.1 Jumlah noda yang terbentuk pada KLTA .....                            | 34 |
| Tabel 4.2 Hasil pemisahan senyawa flavonoid menggunakan KLTP.....               | 37 |
| Tabel 4.3 Hasil panjang gelombang maksimum spektra UV-Vis .....                 | 38 |
| Tabel 4.4 Interpretasi FTIR hasil KLTP isolat 6, 7 dan 8.....                   | 41 |
| Tabel 4.5 Hasil % aktivitas antioksidan dan nilai $IC_{50}$ isolat .....        | 44 |
| Tabel L.4.1 Data hasil rendemen ekstrak etanol daun katuk .....                 | 63 |
| Tabel L.4.2 Data hasil rendemen fraksi etil asetat daun katuk .....             | 63 |
| Tabel L.4.3 Data hasil KLTA fraksi etil asetat .....                            | 65 |
| Tabel L.4.4 Data hasil KLTP eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat (5:5) ..... | 67 |
| Tabel L.4.5 Data aktivitas antioksidan isolat 6.....                            | 74 |
| Tabel L.4.6 Data aktivitas antioksidan isolat 7 .....                           | 76 |
| Tabel L.4.7 Data aktivitas antioksidan isolat 8.....                            | 78 |

## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| Gambar 2.1 Tanaman katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> L. Merr) .....       | 7  |
| Gambar 2.2 Struktur utama flavanoid .....                                   | 9  |
| Gambar 2.3 Dugaan reaksi hidrolisis O-glikosida dan Penetralan .....        | 13 |
| Gambar 2.4 Mekanisme reaksi antioksidan .....                               | 17 |
| Gambar 4.1 Preparasi daun katuk .....                                       | 28 |
| Gambar 4.2 Perubahan warna pada uji fitokimia flavonoid .....               | 31 |
| Gambar 4.3 Reaksi dugaan senyawa flavonoid .....                            | 32 |
| Gambar 4.4 Hasil KLTA flavonoid dengan beberapa variasi eluen .....         | 33 |
| Gambar 4.5 Hasil Spektra UV-Vis Isolat 6, 7 dan 8 .....                     | 38 |
| Gambar 4.6 Hasil FTIR isolat 6, 7 dan 8 .....                               | 41 |
| Gambar 4.7 Panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM .....                     | 43 |
| Gambar L.4.1 Hasil KLTA fraksi etil asetat .....                            | 64 |
| Gambar L.4.2 Hasil KLTP eluen <i>n</i> -heksana dan etil asetat (5:5) ..... | 66 |
| Gambar L.4.3 Lamdha maks isolat 6 warna biru .....                          | 68 |
| Gambar L.4.4 Lamdha maks isolat 7 warna hijau kekuningan .....              | 69 |
| Gambar L.4.5 Lamdha maks isolat 8 warna ungu .....                          | 70 |
| Gambar L.4.6 Hasil FTIR isolat 6 warna biru .....                           | 71 |
| Gambar L.4.7 Hasil FTIR isolat 7 warna hijau kekuningan .....               | 72 |
| Gambar L.4.8 Hasil FTIR isolat 8 warna ungu .....                           | 72 |
| Gambar L.4.9 Lamdha maks DPPH .....   | 73 |

## ABSTRAK

Nofitasari, R. 2022. **IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL EKSTRAKSI DAUN KATUK (*Sauropus androgynous* L. Merr) FRAKSI ETIL ASETAT DAN UJI ANTIOKSIDAN METODE DPPH**. Skripsi. Program Studi Kimia Fakultas Sanis dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing II: A Ghanaim Fasya, M.Si.

---

---

**Kata kunci:** Antioksidan, Daun Katuk, dan Flavonoid

Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel-sel pada tubuh, sehingga mengakibatkan munculnya berbagai penyakit. Antioksidan dapat meredam radikal bebas dan daun katuk diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan senyawa flavonoid yang dikhususkan pada daun katuk (*sauropus androgynous* L. Merr). Penelitian dilakukan dengan preparasi sampel daun katuk (*sauropus androgynous* L. Merr) yang dilanjutkan ekstraksi menggunakan ultrasonik dengan pelarut etanol. Ekstrak pekat etanol kemudian dihidrolisis menggunakan HCl dan dilanjutkan dengan partisi menggunakan etil asetat. Hasil partisi yang diperoleh kemudian diuji fitokimia flavonoid dan dipisahkan senyawa menggunakan KLT. Selanjutnya isolat senyawa yang terpisah berupa flavonoid akan diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dan isolat flavonoid diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

Hasil penelitian menunjukkan hasil ekstraksi ultrasonik menghasilkan rendemen 28,3% dan hasil partisi etil asetat menghasilkan rendemen 2,36%. Pemisahan flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA) menunjukkan bahwa variasi eluen terbaik adalah (5: 5) dengan 11 spot. Pemisahan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) menghasilkan 18 spot serta tiga spot positif flavonoid yaitu isolat 6, 7 dan 8. Isolat positif flavonoid diuji aktivitas antioksidan menghasilkan  $IC_{50}$  83,74, 44,02 dan 44,13 ppm. Hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis terdapat gugus C=C dan C=O serta hasil identifikasi FTIR terdapat gugus fungsi C=C, C-O, C-H dan O-H yang menandakan adanya senyawa flavonoid.

## ABSTRACT

Nofitasari, R. 2021. **IDENTIFICATION OF FLAVONOID ISOLATES FROM THE EXTRACTION OF KATUK LEAVES (*Sauropus androgynous* L. Merr) ETHYLACETATE FRACTION AND ANTIOXIDANT TESTING WITH DPPH METHOD.** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Sanis and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervisor II: A Ghanaim Fasya, M.Si.

---

---

**Keywords:** Antioxidants, Katuk Leaves and Flavonoids

Free radicals cause damage to cells in the body, resulting in the emergence of various diseases. Antioxidants can reduce free radicals and katuk leaves are known to have antioxidant activity. So this study aims to determine the antioxidant activity of flavonoid compounds that are specific to katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) leaves. The study was conducted by preparing samples of katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) leaves followed by ultrasonic extraction with ethanol as a solvent. The concentrated ethanol extract was then hydrolyzed using HCl and continued with partitioning using ethyl acetate. The partition results obtained were then tested for flavonoid phytochemicals and separated by using TLC. Furthermore, isolated compound isolates in the form of flavonoids will be tested for antioxidant activity using the DPPH method and flavonoid isolates are identified using UV-Vis spectrophotometer and FTIR.

The results showed that the ultrasonic extraction produced a yield of 28.3% and the ethyl acetate paste produced a yield of 2.36%. Separation of flavonoids using analytical thin layer chromatography (TLC) indicated that the best eluent variation was n-hexane: ethyl acetate (5: 5) with 11 spots. Separation of preparative thin layer chromatography (TLCP) resulted in 18 spots and three positive spots for flavonoids, namely isolates 6, 7 and 8. The positive isolates for flavonoid in the antioxidant activity test resulted in  $IC_{50}$  83.74, 44.02 and 44.13 ppm. The identification results of UV-Vis spectrophotometer contained C=C and C=O functional groups with the FTIR identification results contained C=C, C-O, C-H and O-H functional groups which indicated the presence of flavonoid compounds.



## ملخص البحث

نوفيتا ساري ر، ٢٠٢٢. تحديد عزلات الفلافونويد الناتجة عن استخراج أوراق الكاتوك (*Sauropus androgynous L. Merr*) جزء خلاص الإيثيل واختبار مضادات الأكسدة DPPH، البحث الجامعي، قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية، مالانج، المشرفان: المشرف الأول: رحمواتي نينغسيه الماجستير، المشرف الثاني احمد غنائم فشا الماجستير.

---

---

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة، أوراق الكاتوك، الفلافونويد.

الجذور الحرة تسبب أضراراً للخلايا في الجسم، مما يؤدي إلى ظهور أمراض مختلفة. يمكن أن تقلل مضادات الأكسدة من الجذور الحرة ومن المعروف أن أوراق الكاتوك لها نشاط مضاد للأكسدة. و لذلك تهدف هذه الدراسة إلى معرفة النشاط المضاد للأكسدة لمركبات الفلافونويد المكرسة لأوراق الكاتوك (*sauropus androgynous L. Merr*) إجراء البحث عن طريق إعداد عينات من أوراق الكاتوك (*sauropus androgynous L. Merr*) التي استمرت في الاستخراج باستخدام الموجات فوق الصوتية مع مذيبات الإيثانول. ثم يتم تحليل المستخلص المركز من الإيثانول باستخدام HCl ويستمر في التقسيم باستخدام خلاص الإيثيل. ثم يتم اختبار نتائج القسم التي تم الحصول عليها بحثاً عن المواد الكيميائية النباتية الفلافونويد والمركبات المنفصلة باستخدام KLT. علاوة على ذلك، سيتم اختبار عزلات مركبة منفصلة في شكل فلافونويد للنشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH وعزلات الفلافونويد المحددة باستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية UV-Vis و FTIR.

أظهرت النتائج أن نتائج الاستخراج بالموجات فوق الصوتية أنتجت عائداً بنسبة ٣، ٢٨ % وأنتج عائداً خلاص الإيثيل عائداً بنسبة ٣٦، ٢ % . أظهر فصل الفلافونويد باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية (KLTA) أن أفضل تباين في التباين هون الهكسان: خلاص الإيثيل (٥:٥) مع ١١ بقعة. أدى الفصل الكروماتوغرافي التحضيري للطبقة الرقيقة (KLTP) إلى ١٨ بقعة بالإضافة إلى ثلاث بقع إيجابية من الفلافونويد، وهي العزلات ٦، ٧ و ٨. العزلات الإيجابية للفلافونويد في اختبار النشاط المضاد للأكسدة أنتجت IC<sub>50</sub> ٨٣،٧٤٥. جزء في المليون (ppm)، جزء في المليون IC<sub>50</sub> ٤٤،٠٢٥ و جزء في المليون IC<sub>50</sub> ٤٤،١٣٥. تحتوي نتائج تحديد مقياس الطيف الضوئي UV-Vis على مجموعات دالة C = O و C = C ونتائج تحديد FTIR هناك O-H و C-H ، C-O ، C = C هناك مجموعات دالة تشير إلى وجود مركبات الفلافونويد.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan zat yang muncul akibat aktivitas lingkungan yang berlebihan diakibatkan dari proses metabolisme esensial normal atau dari sumber eksternal seperti paparan sinar-X, ozon, merokok, polusi, radiasi dan lain-lain (Phanindra, dkk., 2015). Radikal bebas sangat berbahaya jika terlalu banyak pada sistem dalam tubuh manusia, hal ini akan mengakibatkan terjadinya gangguan stres oksidatif serta penyakit lainnya (Sen, dkk., 2010). Radikal bebas dapat mengubah lipid, protein, dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) secara negatif, serta memicu munculnya sejumlah penyakit pada tubuh manusia. Sehingga diperlukannya keseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan agar tubuh tetap sehat (Sen, dkk., 2010).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas serta molekul yang sangat efektif (Hikmawati dan Fatmawati, 2019). Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron dan dapat berfungsi sebagai agen pereduksi sehingga dapat mengkhelat ion metal dan mengurangi potensi radikal dalam tubuh (Sayuti dan Yenrina, 2015). Oleh karena itu, penerapan sumber antioksidan dapat membantu mengatasi timbulnya sebuah penyakit yang diakibatkan oleh radikal bebas.

Sumber antioksidan bisa didapatkan dari antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Dari kedua sumber antioksidan tersebut, banyak masyarakat yang memilih mengkonsumsi antioksidan alami. Selain harga yang ekonomis

antioksidan alami memiliki tingkat toksisitas yang rendah. Antioksidan alami menjadi alternatif masyarakat Indonesia (Sayuti dan Yenrina, 2015). Yati, dkk. (2018) mengemukakan bahwa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, dan quano merupakan senyawa-senyawa yang mampu bertindak sebagai antioksidan. Senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid memiliki efek farmakologi yang signifikan sebagai antioksidan (Khoirunnisa dan Sumiwi, 2019).

Al-Quran juga menjelaskan bahwa tumbuhan diciptakan memiliki banyak manfaat seperti di surah al An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتٍ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّحْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.”

Surah dalam al-Quran tersebut menjelaskan betapa besar kekuasaan Allah SWT, yang telah menurunkan hujan dan menciptakan tanaman atau tumbuh-tumbuhan serta buahnya yang memiliki banyak manfaat. Tumbuhan yang memiliki manfaat salah satunya yaitu katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). Daun katuk sering diolah menjadi makanan dan dimanfaatkan sebagai melancarkan air susu ibu (ASI) sejak dahulu hingga saat ini. Penelitian Nurdianti dan Tulisnah (2017)

mengemukakan bahwa daun katuk memiliki banyak kandungan senyawa metabolit primer dan sekunder yang memiliki aktivitas farmakologi, salah satunya yaitu sebagai antioksidan. Menurut penelitian Ekawati, dkk. (2017) flavonoid sebagai aktivitas antioksidan menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 21,59 ppm. Penelitian Nurdianti dan Tulisnah (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol pada daun katuk menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 32,04 ppm. Menurut penelitian Zuhra, dkk. (2008) aktivitas antioksidan senyawa flavonoid pada daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 80,81 ppm.

Senyawa flavonoid didapatkan dari suatu metode pemisahan, salah satunya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Menurut Sharma dan Janmeda (2017) eluen (fasa gerak) dapat mempengaruhi isolasi senyawa flavonoid. Penelitian mabruroh, dkk. (2019) mengemukakan bahwa hasil dari KLT secara bergradien dipilih dari eluen yang mempunyai jumlah noda terbanyak dan jarak pemisahan antar noda terpisah secara teratur. Penelitian Koirewoa, dkk. (2012) mengemukakan bahwa senyawa flavonoid bersifat polar sehingga eluen yang memiliki sifat yang sama maka akan mengisolasi senyawa flavonoid dengan baik.

Identifikasi senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan pada daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dimulai dengan ekstraksi ultasonik. Menurut Winata dan Yuniarta (2015) kelebihan dari ekstraksi ultrasonik yaitu waktu ekstraksi lebih cepat, rendemennya lebih maksimal, dan lebih hemat pelarut. Penelitian Masrihanah (2020) menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menggunakan pelarut air sebesar 34,49 %, etanol sebesar 16,54 %, metanol sebesar 15,74 %, etil asetat sebesar 4,64 %, dan petroleum eter sebesar 3,10 %. Karena ekstrak air mudah diserang jamur dan bakteri sehingga

peneliti menggunakan pelarut etanol. Penelitian Masrihanah (2020) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) pada ekstrak air  $IC_{50}$  1625 ppm, ekstrak metanol  $IC_{50}$  829,8 ppm, ekstrak etanol  $IC_{50}$  329,9 ppm, ekstrak etil asetat  $IC_{50}$  43,67 ppm, dan ekstrak petroleum eter  $IC_{50}$  75,39 ppm.

Pemisahan flavonoid agar lebih spesifik maka dilakukan hidrolisis dan partisi untuk memisahkan ikatan glikon. Menurut penelitian Tanaya, dkk. (2015) pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa flavonoid, sehingga partisi dilakukan menggunakan fraksi etil asetat. Isolasi senyawa flavonoid dapat menggunakan KLT. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metode ini dipilih karena ditemukan paling efektif dan efisien (Maesaroh, dkk., 2018). Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer ultra violet *visible* (UV-*visible*) dan spektrofotometer infra merah (IR). Berdasarkan uraian di atas, dilakukan penelitian tentang identifikasi isolat flavonoid hasil kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) fraksi etil asetat dan uji antioksidan daun katuk (*sauropus androgynous* L. Merr).

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang munculah sebuah rumusan masalah yaitu sebagai berikut:

- a. Bagaimana hasil identifikasi isolat flavonoid daun katuk (*Sauropus androgynous* L Merr) hasil KLTP fraksi etil asetat?

- b. Bagaimana aktivitas antioksidan dari isolat flavonoid daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) hasil KLTP fraksi etil asetat?

### 1.3 Tujuan

Dari rumusan masalah munculah sebuah tujuan dari penelitian ini yaitu:

- a. Mengetahui hasil identifikasi senyawa pada isolat hasil KLTP fraksi etil asetat daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr).
- b. Mengetahui aktivitas antioksidan dari isolat flavonoid hasil KLTP fraksi etil asetat daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr).

### 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a. Sampel yang digunakan yaitu daun katuk (*Sauropus Androgynous* L. Merr) dari daerah Malang.
- b. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit
- c. Menggunakan pelarut etanol untuk ekstraksi
- d. Senyawa yang dianalisis yaitu metabolit sekunder berupa flavonoid
- e. Analisis metabolit sekunder menggunakan uji fitokimia
- f. Pengambilan senyawa yang lebih spesifik dari metabolit sekunder dengan metode hidrolisis dan partisi.
- g. Menggunakan fraksi etil asetat
- h. Isolasi senyawa flavonoid menggunakan KLT
- i. Uji antioksidan menggunakan metode DPPH

- j. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR

### **1.5 Manfaat**

Manfaat dari penelitian daun katuk (*Sauropus Androgynous* L. Merr) yaitu memperoleh senyawa metabolit sekunder berupa Flavonoid. Senyawa Flavonoid tersebut yang akan dimanfaatkan sebagai antioksidan alami.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Katuk

##### 2.1.1 Morfologi Tanaman Katuk

Tanaman katuk memiliki karakteristik bentuk tanaman seperti semak kecil dan bisa mencapai tinggi 3 m, batang muda berwarna hijau (kulit yang agak licin) dan yang tua berwarna coklat, daun tersusun selang-seling pada satu tangkai. Bentuk helaian daun lonjong sampai bundar, permukaan atasnya berwarna hijau gelap. Bunganya tunggal atau terdapat diantara satu daun dengan daun lainnya. Bunga sempurna mempunyai helaian kelopak berbentuk bulat telur sungsang atau bundar, berwarna merah gelap atau merah dengan bintik-bintik kuning. Cabang dari tangkai putik berwarna merah, tepi kelopak bunga berombak atau berkuncup enam, berbunga sepanjang tahun dan buah bertangkai (Santoso, 2018). Tanaman katuk ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr)

Dalam taksonomi tumbuhan, katuk diklasifikasikan sebagai berikut (Nusantari, 2015):



|            |                                 |
|------------|---------------------------------|
| Kingdom    | : Plantae                       |
| Divisi     | : Spermatophyta                 |
| Sub divisi | : Angiospermae                  |
| Kelas      | : Dicotyledoneae                |
| Ordo       | : Euphorbiales                  |
| Famili     | : Euphorbiaceae                 |
| Genus      | : Sauropus                      |
| Spesies    | : Sauropus androgynous L. Merr. |

Daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) merupakan jenis tanaman yang sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk terapi atau pengobatan berbagai macam penyakit. Bagian tanaman katuk yang digunakan berupa daun yang masih muda. Akhir-akhir ini penelitian menyebutkan bahwa daun katuk mengandung saponin dan tanin yang memiliki efek sebagai pelangsing atau antiobesitas. Jus daun katuk diyakini cukup efektif untuk menurunkan bobot badan, obat tekanan darah tinggi, hiperlipidemia dan konstipasi (Bunawan, dkk., 2015).

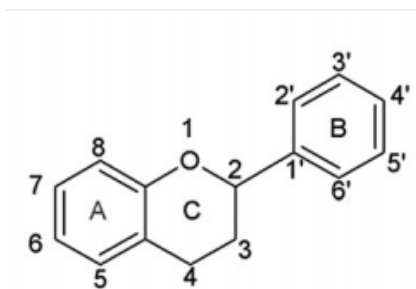
### **2.1.2 Kandungan Daun Katuk**

Daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) memiliki banyak kandungan gizi, kandungan gizi per 100 gram daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) yaitu energi 59,00 kal, karbohidrat 11,00 gram, protein 4,80 gram, lemak 1,00 gram, kalsium 204,00 mg, fosfor 83,00 mg, zat besi 2,70 mg, vitamin A 10.374,00 SI, vitamin B1 0,10 mg, vitamin C 239,00 mg, air 81,00 gram, dan bagian dapat dimakan 40,00% (Andini, 2014). Bukan hanya kandungan gizi yang terdapat pada daun katuk namun juga terdapat senyawa-senyawa kimia seperti metabolit sekunder dan primer yang umumnya ada pada setiap tumbuhan.

Setiap tumbuhan memiliki senyawa metabolit primer dan sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia pada tumbuhan yang memiliki bioaktivitas berperan sebagai atraktan, pertahanan serta perlindungan dari sinar

ultra violet (UV), herbivora dan mikroorganisme pengganggu (Anggito, dkk., 2018). Daun katuk merupakan alternatif pengobatan yang potensial karena memiliki banyak vitamin dan nutrisi. Menurut penelitian Susanti, dkk hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 90% daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) positif mengandung senyawa golongan alkaloid, triterpenoid, saponin, tanin, polifenol, glikosida dan flavonoid. Penelitian Masrihanah (2020) hasil dari uji fitokimia daun katuk menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan steroid. Senyawa aktif yang efektif pada kandungan daun katuk meliputi karbohidrat, protein, glikosida, saponin, tanin, flavonoid, steroid dan alkaloid yang berkhasiat sebagai antidiabetes, antiobesitas, antioksidan, menginduksi laktasi, antiinflamasi dan antimikroba (Masjid dan Muchtardi, 2018).

## 2.2 Flavonoid



Gambar 2.2 Struktur utama flavanoid (Panche, N.A., dkk. 2016)

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder penting pada tumbuhan. Secara umum klasifikasi flavonoid terdiri dari flavon, flavonol, flavanol, flavanone, ansotianidin, dan kalkon. Klasifikasi flavonoid ini tergantung pada perbedaan substitusi struktur flavonoid dan perbedaan ini menyebabkan aktivitas farmakologi yang beragam. Perbedaan aktivitas farmakologi flavonoid diantaranya

adalah sebagai antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antibakteri (Alfaridz dan Amalia, 2018). Pembagian kelompok flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur terutama pada substitusi karbon pada gugus aromatik sentral dengan beragamnya aktivitas farmakologi yang ditimbulkan (Wang, dkk., 2018).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang mempunyai sifat antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam dan tidak merusak sel tubuh. P-ostreatus mempunyai potensi yang baik sebagai antioksidan karena mempunyai kandungan flavonoid (Sayuti dan Yenrina, 2015). Flavonoid erat kaitannya dengan antioksidan karena memiliki kemampuan untuk memecah radikal bebas. Mekanisme pencegahan radikal bebas oleh flavonoid dapat dibagi menjadi tiga yaitu: memperlambat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), memecah ROS dan meregulasi/proteksi dengan antioksidan (Alfaridz dan Amalia, 2018). Flavonoid bertindak sebagai antioksidan dikarenakan memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas dan menstabilkan senyawa oksigen reaktif ROS serta memiliki gugus keton hidroksil yang bertindak sebagai perekat logam yang menjadi katalis pada peroksidasi lipid (Adawiyah, dkk., 2015).

### **2.3 Ekstraksi Bahan Alam**

Ekstraksi merupakan proses penarikan suatu senyawa metabolit dengan menggunakan suatu pelarut. Pada penelitian ini proses ekstraksi menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik akan menghasilkan suatu getaran yang menghasilkan gelembung kavitas yang akan memecah dinding sel dan

melepaskan isi sel ke dalam media ekstraksi (Rifkia dan Prabowo, 2020). Ekstraksi daun katuk menggunakan metode ultrasonik, menurut Sayuti, (2017) metode ultrasonik lebih optimal dalam mengekstrak suatu bahan alam. Metode ini memerlukan waktu yang singkat sehingga lebih efisien, meningkatkan hasil ekstrak dan meningkatkan kinetika yang lebih cepat. Menurut penelitian Rifkia dan Prabowo (2020) lama ekstraksi ultrasonik pada waktu 10, 15 dan 20 menit dengan variasi suhu 50, 60 dan 70 °C yang datanya dirangkum pada Tabel 2.3.

Tabel 2.1 Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kadar total flavonoid (%) (Rifkia dan Prabowo, 2020)

| Suhu<br>(°C) | Waktu      |            |            |
|--------------|------------|------------|------------|
|              | 10 (menit) | 15 (menit) | 20 (menit) |
| 50           | 1,47       | 1,81       | 1,71       |
| 60           | 1,32       | 1,30       | 1,22       |
| 70           | 1,14       | 0,82       | 0,86       |

Sekarsari, dkk. (2019) menyatakan bahwa peningkatan suhu dalam proses ekstraksi perlu diperhatikan, suhu ekstraksi yang terlalu tinggi dan waktu ekstraksi yang terlalu lama serta melampaui batas optimum dapat menyebabkan hilangnya senyawa-senyawa pada larutan karena terjadi proses oksidasi. Komponen bioaktif seperti flavonoid tidak tahan terhadap suhu tinggi diatas 50 °C, sehingga mengalami perubahan struktur serta menghasilkan ekstrak yang rendah. Penelitian Sekarsari, dkk. (2019) menunjukkan nilai rata-rata tertinggi total flavonoid diperoleh pada ekstraksi dengan waktu 20 menit yaitu 637,33 mg QE/g. Menurut Masrihanah (2020) frekuensi 42 kHz pada suhu ruang (25 °C) selama 20 menit merupakan waktu terbaik untuk ekstraksi ultrasonik suatu sampel.

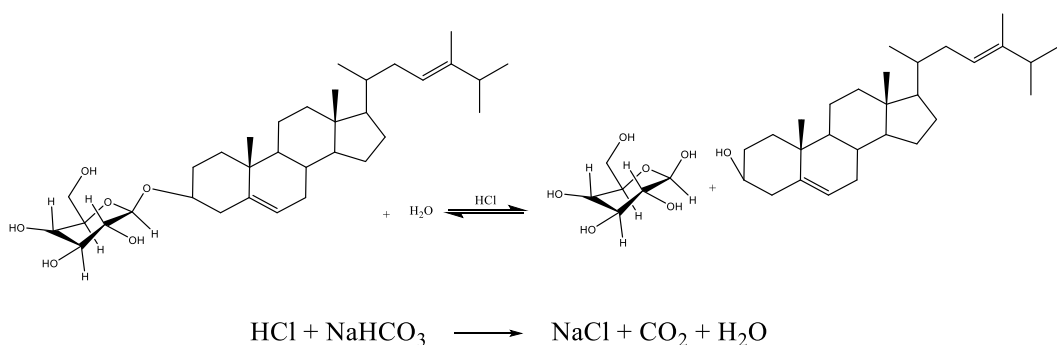
Flavonoid merupakan senyawa polar semipolar sehingga larut pada pelarut polar dan semipolar. Penelitian Masrihanah (2020) rendemen ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menggunakan pelarut air sebesar 34,49 %, etanol sebesar 16,54 %, metanol sebesar 15,74 %, etil asetat sebesar 4,64 %, dan petroleum eter sebesar 3,10 %. Pada penelitian Rusdi, dkk. (2018) yang menggunakan metode maserasi diperoleh rendemen untuk ekstrak etanol 70 % dari daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) sebesar 21,99 % dari 1430 gram sampel. Menurut penelitian Hikmawati dan Fatmawati (2020) ekstraksi daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) sebanyak 150 gram menggunakan pelarut etanol 70 % dengan waktu 5, 15 dan 45 menit mendapatkan rendemen berturut-turut sebesar 22,91, 27,38 dan 36,29 %. Pelarut yang baik digunakan untuk isolasi senyawa flavonoid yaitu etanol karena tidak mudah terserang mikroorganisme. Pelarut etanol baik digunakan karena aman dan tidak toksik (Arista, 2013).

#### **2.4 Hidrolisis dan Partisi**

Senyawa metabolit sekunder yang lebih spesifik dapat diperoleh melalui proses hidrolisis dan partisi. Senyawa organik umumnya berbentuk glikosida yang terdiri dari glikon dan aglikon yang dihubungkan dengan ikatan glikosida. Senyawa metabolit sekunder tergolong dalam senyawa aglikon. Hidrolisis dilakukan dengan penambahan katalis asam untuk mempercepat reaksi pemutusan ikatan glikosida. Hasil hidrolisis dilakukan partisi untuk mengambil metabolit sekunder yang diinginkan yang mempunyai kesamaan kepolaran dengan pelarut (Fasya, dkk., 2016).

Hidrolisis merupakan reaksi pemutusan ikatan glikosida yang disebabkan adanya proses dekomposisi kimia (Adhiatama, dkk., 2012). Pada umumnya senyawa organik yang ada di dalam tanaman berbentuk glikosida yaitu terdiri dari gula (glikon) dan senyawa bukan gula (aglikon). Metabolit sekunder tergolong dalam senyawa aglikon. Mendapatkan senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan dengan pemutusan ikatan glikosida menggunakan reaksi hidrolisis (Saifudin, dkk., 2006).

Partisi merupakan ekstraksi cair-cair yang menggunakan pelarut organik dengan prosedur pemisahan yang didasarkan pada kepolaran kandungan senyawanya (Anggraeni, dkk., 2014). Pemilihan pelarut yang digunakan sangat penting agar senyawa-senyawa yang bersifat semi polar dan *non-polar* dapat terekstrak, pada proses ini terdapat dua lapisan yang tidak saling bercampur dan diduga pelarut yang bersifat polar (fase air) akan mengekstrak komponen karbohidrat (glikon) sedangkan pelarut semi polar maupun *non-polar* (fasa organik) akan mengekstrak metabolit sekunder aglikon yang sudah terpisah dengan komponen gula, juga aktif sebagai antioksidan maupun antibakteri (Fasya, dkk., 2016).



Gambar 2.3 Dugaan reaksi hidrolisis O-glikosida dan Penetralan dengan natrium bikarbonat (Saifudin, dkk., 2006)

## 2.5 Uji fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan. Pada penelitian ini pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari ekstrak hasil ultrasonik, lalu ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol spons lamellogyrodia herbacea menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin (Rumagit, 2015).

Uji fitokimia flavonoid dilakukan dengan penambahan HCl pekat dan dilanjutkan dengan penambahan Mg. Penambahan logam Mg dan asam klorida pekat bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga dimana proses reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl pekat (Mukhriani, dkk., 2019). Dari hasil pengujian tersebut terbentuknya perubahan warna intensif, menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Mariana, dkk., 2013).

## 2.6 Monitoring KLT

KLT adalah salah satu metode pemisahan komponen menggunakan fasa diam berupa plat dengan lapisan bahan adsorben *inert*. Analisis dengan menggunakan KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi simplisia yang kelompok kandungan kimianya sudah diketahui. Kelompok kandungan kimia seperti: alkaloid, antraglikosida, arbutin, glikosida jantung, zat pahit, flavonoid, saponin, minyak atsiri, kumarin, dan asam fenol karboksilat (Fessenden dan

Fessenden, 1982). Dilakukan uji KLT untuk mempertegas hasil positif yang diperoleh dari skrining fitokimia (Yuda, dkk., 2017).

KLT merupakan suatu teknik yang sederhana yang banyak digunakan, metode ini menggunakan lempeng kaca atau lembaran plastik yang ditutupi penyerap atau lapisan tipis dan kering. Menotolkan larutan cuplikan pada lempeng kaca, pada dasarnya menggunakan mikro pipet atau pipa kapiler. Setelah itu, bagian bawah dari lempeng dicelup dalam larutan pengelusi di dalam wadah yang tertutup. Prinsip KLT adalah adsorpsi dan partisi dimana adsorpsi adalah penyerapan pada permukaan, sedangkan partisi adalah penyebaran atau kemampuan suatu zat yang ada dalam larutan untuk berpisah ke dalam pelarut yang digunakan. Kecepatan gerak senyawa-senyawa ke atas pada lempengan tergantung pada interaksi antara fasa gerak dan fasa diam (Soebagio, 2002).

Menurut penelitian Masrihanah (2020) isolasi senyawa flavonoid ekstrak daun katuk menggunakan eluen *n*-butanol: etil asetat: air (4:1:5) terdapat 5 titik senyawa flavonoid pada nilai  $R_f$  0,49; 0,61; 0,72; 0,89; 0,94. Eluen metanol: aquades (4:6) tidak ada yang terpisah. Penelitian Sharma dan Janmeda (2017) mengemukakan sebagai sistem pelarut yang paling tepat untuk pemisahan flavonoid dari ekstrak etanol menggunakan fasa gerak *n*-butanol: etil asetat: air (2:2:6) dengan menghasilkan nilai  $R_f$  0,60, 0,79 dan 0,90. Menurut Mabruroh, dkk. (2019) fasa gerak elusi yang baik pada KLT yang digunakan dengan fasa gerak *n*-butanol: etil asetat yaitu dengan perbandingan (8:2) diantara *n*-heksana: etil asetat (9:1), (8:2), (7:3), dan (6:4).



## 2.7 Uji Antioksidan Metode DPPH

Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik dan polifenolik. Senyawa-senyawa golongan tersebut banyak terdapat di alam, terutama pada buah-buahan dan rempah yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas. Salah satu metode yang digunakan dalam menguji aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH. Metode pengujian ini merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan (Tristantini, dkk., 2016). Menurut Widyastuti, (2010) metode DPPH mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik. Reaksi oksidasi terjadi setiap saat, ketika manusia bernapas, reaksi ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Reaktivitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2007). Kekuatan suatu senyawa sebagai antioksidan dapat dilihat dalam Tabel 2.2 dalam nilai  $IC_{50}$ . Adapun kemungkinan reaksi yang terjadi DPPH dengan antioksidan pada Gambar 2.4

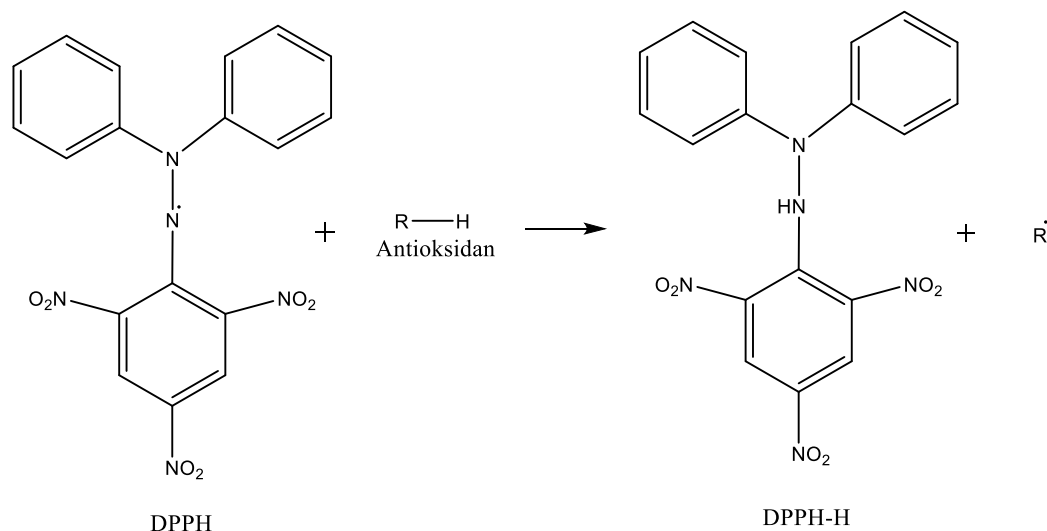
Menurut Alfaridz dan Amalia, (2018) yang menyatakan gugus hidroksi pada flavonoid memiliki reaktivitas yang tinggi sebagai donor hidrogen akan menstabilkan radikal bebas. Hasil yang didapat pada pengukuran panjang gelombang maksimum yaitu 515,5 nm, panjang gelombang tersebut dapat digunakan karena panjang gelombang dari absorbansi maksimum untuk pengukuran dengan metode DPPH yaitu 515-520 nm (Molyneux, dkk., 2004).

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada  $\lambda_{maks}$  515 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antiradikal maka DPPH tersebut akan tereduksi

dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya penangkapan satu elektron oleh zat antiradikal yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Tristantini, dkk., 2016).

Tabel 2.2 Tingkat kekuatan antioksidan (Hikmawati dan Fatmawati, 2019)

| Intensitas  | Nilai $IC_{50}$ (ppm) |
|-------------|-----------------------|
| Sangat Kuat | < 50                  |
| Kuat        | 50-100                |
| Sedang      | 100-150               |
| Lemah       | > 150                 |



Gambar 2.4 Mekanisme reaksi antioksidan dengan DPPH (Tristantini, dkk., 2016)

## 2.8 Identifikasi Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan pengukuran intensitas absorpsi dalam daerah spektra tertentu yang dapat digunakan secara luas, terutama jika suatu zat dalam campuran reaksi mempunyai absorpsi khas yang kuat dalam daerah spektrum yang dapat dicapai dengan mudah. Sinar UV dan sinar tampak memberikan energi yang cukup untuk transisi elektronik yang akan meningkatkan

energi molekul (Fatimah, 2016). Spektrum khas senyawa flavonoid terdiri atas dua maksimal pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 300-550 nm (pita I). Kedudukan yang tepat dan kekuatan nisbi maksimal tersebut memberikan informasi yang berharga mengenai sifat flavonoid dan pola oksigenasinya (Marhkam, 1988).

Menganalisis struktur dari senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid spektroskopi UV merupakan cara yang terbaik untuk mengkarakterisasi jenis-jenis senyawa flavonoid. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas yang terdapat pada inti flavonoid dapat ditentukan juga dengan menambahkan pereaksi geser (Markham, 1988). Menurut penelitian Zuhra, dkk. (2008) dari hasil analisis spektrum UV-Vis flavonoid daun katuk (*Sauropus androgunus* L. Merr) dalam pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 292 nm yang menunjukkan flavonoid ini adalah flavonoid jenis flavanon. Penelitian Nuari, dkk. (2017) isolat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 330 nm (pita I) dan 280 nm (pita II) termasuk dalam golongan flavanon atau dihidroflavonol.

## **2.9 Identifikasi Spektrofotometer IR**

Spektrofotometer inframerah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0.75–1.000  $\mu\text{m}$  atau pada bilangan gelombang 13.000–10  $\text{cm}^{-1}$ . Metode spektroskopi inframerah merupakan suatu metode yang meliputi teknik serapan (*absorption*), teknik emisi (*emission*), teknik fluoresensi (*fluorescence*). Frekuensi atau panjang gelombang serapan pada FTIR bergantung pada massa relatif atom, konstanta gaya ikatan, dan geometri atom (Silverstein, dkk).

Spektrofotometer ini memiliki kegunaan sebagai identifikasi suatu senyawa dengan memberikan informasi mengenai keberadaan gugus fungsi dalam suatu senyawa organik. Radiasi inframerah menyebabkan terjadinya vibrasi dari gugus fungsi suatu molekul. Panjang gelombang umum mengalami vibrasi yang ada pada spektrofotometer IR yaitu 2,5-15 $\mu\text{m}$  (4000-650  $\text{cm}^{-1}$ ) (Wulandari, dkk., 2016). Ikatan (C-C, C-H, C-O, O-H, N-H, C=C dan sebagainya) yang berbeda memiliki frekuensi vibrasi yang berbeda yang dapat terdeteksi dan teridentifikasi ikatan-ikatan molekul senyawa organik serta melalui frekuensi maka akan muncul sebagai pita serapan spektrum inframerah yang dapat diidentifikasi (Sastrohamidjojo, 2007).

Senyawa flavonoid dapat diidentifikasi oleh FTIR dengan memberikan informasi mengenai gugus fungsi flavonoid. Flavonoid yang diidentifikasi dengan FTIR akan memberikan serapan khas untuk gugus fungsi tertentu. Pada penelitian Ekawati, dkk., (2017), menyatakan bahwa hasil positif flavonoid ketika diidentifikasi menggunakan FTIR akan memberi serapan khas pada gugus fungsi yaitu C-H dan C=C aromatik, OH, C=O, C-H alifatik, C-O alkohol, serta C-O eter. Hasil penelitian Mabruroh, dkk., (2019), diduga merupakan senyawa metabolit sekunder jenis flavonoid, yang ditandai dengan adanya gugus fungsi -OH terikat, CH alifatik, C=O karbonil, C=C aromatik, CO alkohol, dan CH aromatik.

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2021-Januari 2022 di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Instrumentasi UV-Vis. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah seperangkat alat gelas diantaranya beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, corong pisah, corong buchner, pengaduk, gelas arloji, pipet ukur, botol vial, labu ukur dan *chamber*. Alat yang lain diantaranya neraca analitik, ultrasonik, spatula, pH indikator, *shaker*, *rotary evaporator*, aluminium foil, blender, bola hisap, pipa kapiler, oven, *hot plate*, stirer, statif, plat silica, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr), etanol, HCl 2 M, NaHCO<sub>3</sub>, etil asetat, DPPH, asam asetat, *n*-heksana, *n*-butanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, serbuk Mg, amonia dan aquades.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratorik dilaksanakan melalui pengujian di laboratorium. Daun katuk yang telah diambil, dibersihkan, kemudian dikeringkan untuk menghilangkan kadar air di dalam daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). Sampel dihaluskan dan diekstraksi menggunakan ultrasonik dengan pelarut etanol sehingga didapatkan ekstrak pelarut. Hasil ultrasonik yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Hasil yang telah didapatkan yang berupa ekstrak etanol dihidrolisis dan partisi dengan etil asetat. Hasil dari fraksi ini akan diuji fitokimia untuk mengetahui bahwa ada senyawa flavonoid. Setelah diketahui adanya senyawa flavonoid maka akan dipisahkan menggunakan KLTP dengan pemilihan eluen terbaik menggunakan KLTA. Noda yang terbentuk dianalisis, diamati dengan lampu UV, kemudian dikerok dan diuji antioksidannya menggunakan metode DPPH, dengan konsentrasi sebagai berikut:

$$M_1 = 10 \text{ ppm}$$

$$M_2 = 20 \text{ ppm}$$

$$M_3 = 30 \text{ ppm}$$

$$M_4 = 40 \text{ ppm}$$

$$M_5 = 50 \text{ ppm}$$

Dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan sampel) pada waktu inkubasi 30 menit. Dengan mengukur absorbansi dari masing-masing konsentrasi dengan panjang gelombang maksimum. Kemudian nilai absorbansi larutan DPPH terhadap sampel dihitung sebagai persen inhibisi selama 30 menit (% inhibisi) dengan menganalisis pengaruh konsentrasi sampel (ppm) dengan persentase inhibisi (%). Dengan memasukkan nilai hasil perhitungan ke dalam persamaan linier ( $Y = aX +$

b) dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis ( $X$ ) dan nilai persentase inhibisi sebagai ordinat ( $Y$ ) maka akan diketahui nilai  $IC_{50}$  nya dari inhibisi (%) sebesar 50% dan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### **3.4 Prosedur Kerja**

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan sebagai berikut:

- a. Preparasi sampel
- b. Ekstraksi senyawa aktif pada sampel
- c. Hidrolisis dan partisi
- d. Uji fitokimia (senyawa flavonoid)
- e. Pemisahan senyawa flavanoid dengan KLT
- f. Uji aktivitas antioksidan metode DPPH
- g. Identifikasi senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.5.1 Preparasi Sampel**

Tanaman katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) dilakukan dengan diambil bagian daun tanaman katuk sebanyak 3 kg, kemudian dicuci, dan dikering anginkan selama 7 hari. Selanjutnya dihaluskan menggunakan mesin penghalus sampai terbentuk serbuk, dan diayak dengan ukuran  $\geq 90$  mesh kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 38 °C selama 24 jam.

#### **3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik Duan Katuk**

Sampel daun katuk yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 20 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan etanol 200 mL, dan

ditutup dengan aluminium foil. Setelah itu diekstraksi dengan metode ultrasonik dengan frekuensi 42 Khz selama 20 menit. Kemudian campuran pelarut disaring dengan kertas saring. Larutan ekstrak dievaporasi dengan alat *vacuum rotary evaporator*. Kemudian ekstrak kental ditimbang dan dihitung rendemennya (Rifkia dan Prabowo, 2020). Perhitungan rendemen mengikuti persamaan (3.1).

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

### 3.5.3 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Etanol Daun Katuk

Ekstrak etanol dihidrolisis dengan cara penambahan HCl 2 M 10 mL. Selanjutnya, ditambahkan natrium bikarbonat sampai pH 7 (netral). Ekstrak pekat etanol yang diperoleh pada proses sebelumnya dipindahkan ke dalam corong pisah dan dipartisi dengan pelarut etil asetat. Pelarut etil asetat ditambahkan sebanyak 25 mL kemudian dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan organik dan lapisan air. Masing-masing lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan, lapisan air yang ada di bagian bawah ditampung dan dimasukkan lagi ke corong pisah. Proses partisi dilakukan hingga diperoleh fasa air bening. Lapisan organik dimasukkan ke dalam gelas kimia kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* lalu dialiri dengan gas N<sub>2</sub>. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya ditimbang dan dihitung rendemennya (Fasya, dkk., 2019).

### 3.5.4 Uji Fitokimia (Senyawa Flavonoid)

Ekstrak pekat hasil partisi 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu



ditambah dengan serbuk magnesium (Mg) dan tambahkan 5 tetes HCl pekat. Jika reaksi yang terjadi menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid (Rachim, dkk., 2020).

### **3.5.5 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTA**

Pemisahan dengan KLTA dengan menggunakan plat silika G60F254 dengan ukuran 1 x 10 cm yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit. Ditotolkan ekstrak kasar yang sudah dilarutkan, dengan pelarutnya pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler di masing-masing plat berukuran 1 x 10 cm, kemudian dikeringkan dan dielusi dengan fase gerak yang telah ditentukan dengan menggunakan 4 macam variasi sebagai berikut,

V1 = 2:2:6 (*n*-butanol: etil asetat: air) (Sharma dan Janmeda, 2017)

V2 = 5:5 (*n*-heksana: etil asetat) (Rusdi, dkk., 2018)

V3 = 8:2 (*n*-heksana: etil asetat) (Mabrurroh, dkk., 2019)

V4 = 4:1:5 (*n*-butanol: etil asetat: air) (Masrihanah, 2020)

Setelah eluen mencapai garis batas, elusi dihentikan. Diamati pemisahan noda yang terbentuk dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm dan dihitung nilai  $R_f$ -nya.

### **3.5.6 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTP**

Pemisahan senyawa flavonoid dilakukan dengan KLTP menggunakan plat silika gel G60F254 dengan ukuran 10 x 20 cm. Diaktifkan plat silika dengan di oven pada suhu 100 °C selama 300 menit, kemudian ekstrak kasar hasil ekstraksi yang

sudah dilarutkan pada pelarutnya sebanyak 1 mL ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah. Sampel dikeringkan dan dielusi dengan menggunakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada tahap KLTA. Setelah gerakan fase gerak sampai pada garis batas atas, elusi dihentikan. Plat dikeringkan, noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing spot yang terbentuk. Noda yang diduga senyawa flavonoid dihitung nilai  $R_f$  nya. Masing-masing noda dikerok kemudian dilarutkan dalam pelarutnya, selanjutnya *divortex* untuk melarutkan, dan disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya. Dipisahkan silika dari supernatannya dan diulangi sampai lima kali, kemudian diuapkan pelarutnya. Uji fitokimia dilakukan dengan menyemprotkan amonia, pada potongan plat hasil KLTP berukuran 1 x 20 cm, hasil uji. Hasil positif adanya senyawa flavonoid ditandai dengan spot/bercak berfluoresensi kuning kehijauan pada UV 254 dan 366 nm yang menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid. Pengamatan dilakukan secara langsung (Suhaenah dan Nuryanti, 2017).

### **3.5.7 Uji Antioksidan Isolat Flavonoid**

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebanyak 25 mg ekstrak KLTP ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu ukur 25 mL dengan etanol kemudian volumenya dicukupkan dengan etanol sampai garis tanda. Larutan induk (larutan induk 100 ppm) dipipet sebanyak 1, 2, 3, 4 dan 5 mL ke dalam labu ukur 25 mL untuk mendapatkan konsentrasi larutan uji 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Dimasukan sampel ke tabung reaksi sebanyak 3 mL dengan blangko (triplo) dan ditanda bataskan dengan etanol selanjunya ditambahkan larutan DPPH 1 mL 0,2

mM (Lampiran 3.2) diinkubasi selama 30 menit. Uji aktivitas antioksidan pada sampel, dengan mengetahui absorbansi DPPH diukur dengan spektrometer sinar tampak pada rentang panjang gelombang 200-800 nm pada spektrofotometer UV-Vis. Kemampuan antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan ekstrak tersebut dihitung sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dengan persamaan 3.2 dengan  $A$  kontrol adalah absorbansi tidak mengandung sampel dan  $A$  sampel adalah Absorbansi sampel (Zuhra, dkk., 2008).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

Selanjutnya hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu  $X$ ) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu  $Y$ ). Nilai  $IC_{50}$  dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50%.  $Y = aX + b$ .

### **3.5.8 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis**

Sampel murni yang diperoleh dari pemisahan hasil KLTP. Selanjutnya dimasukkan kedalam kuvet hingga sepertiganya dan dianalisis pada panjang rentang gelombang 200–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sehingga akan diperoleh spektrum dan panjang gelombang maksimum (Maghfiroh, 2016).

### **3.5.9 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan FTIR**

Hasil isolasi senyawa flavonoid dengan kromatografi kolom diidentifikasi menggunakan FTIR untuk membuktikan senyawa yang telah diisolasi adalah benar-

benar senyawa Flavonoid. Membuat pellet KBr dengan digerus mortal agate, dipress dengan tekanan 80 torr, Selanjutnya pellet yang telah dipress ditetesi sampel cair yang diduga senyawa flavonoid kemudian dianalisis menggunakan FTIR.

## BAB IV

### PEMBAHASAN

#### 4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) yang diperoleh dari Lowokwaru, Malang, Jawa Timur. Preparasi sampel meliputi pencucian bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang terdapat pada daun katuk. Pengeringan dilakukan dengan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada sampel agar sampel tidak mudah dirusak oleh mikroorganisme serta tidak mengganggu proses ekstraksi, dapat dilihat dari Gambar 4.1. Menghaluskan daun katuk bertujuan untuk menyamakan ukuran sampel dan memperluas permukaan agar sampel mudah berinteraksi dengan pelarut pada ekstraksi (Masrihanah, 2020). Sampel basa diperoleh 3 kg, setelah dikeringkan serta setelah dihaluskan mendapatkan hasil 80 gram sampel.



Gambar 4.1 Preparasi daun katuk (a) Daun katuk sedang diangin-anginkan (b) Daun katuk yang telah menjadi bubuk.

## 4.2 Ekstraksi Sampel

Tumbuhan yang ada di alam memiliki senyawa metabolit sekunder yang berkaitan dengan glikosida yang bersifat polar ataupun semi polar. Senyawa flavonoid yang bersifat polar semi polar, maka pada penelitian ini proses ekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut etanol 70%. Senyawa-senyawa polar dan semi polar dalam sitoplasma sel akan larut pada pelarut organik setelah mengalami plasmolisis. Adanya perbedaan tekanan di luar dan di dalam sel mengakibatkan terjadinya pemecahan dinding sel, sehingga senyawa di dalam sitoplasma akan larut pada pelarut etanol yang menyebabkan zat aktif keluar sel dan memaksimalkan hasil rendemen (Januarti, dkk., 2017).

Filtrat hasil ekstraksi ultrasonik yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* bertujuan untuk menguapkan pelarutnya serta untuk mendapatkan ekstrak pekat etanol. Hasil ekstrak pekat etanol yang didapatkan memiliki warna hijau kehitaman. Hasil dari ekstraksi ultrasonik daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) sebanyak 20 gram dengan menghasilkan rendemen sebesar 28,3% (Perhitungan L.4.1) dengan berat ekstrak pekat 5,6655 gram.

## 4.3 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Etanol Daun Katuk

Senyawa organik yang terdapat pada tumbuhan dalam bentuk ikatan glikosida yaitu gabungan antara dua bagian senyawa yaitu glikon dan aglikon. Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder maka harus memutus ikatan pada glikosida. Pemutusan ikatan glikosida dilakukan dengan penambahan katalis asam. Hidrolisis pada senyawa aktif ekstrak pekat etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dilakukan dengan penambahan katalis asam HCl 2N, yang

diasumsikan setelah penambahan katalis asam senyawa metabolit sekunder yang terikat pada aglikon terputus.

Penambahan katalis menggunakan asam kuat karena berfungsi mempercepat reaksi pemutusan ikatan glikosida serta garam yang dihasilkan garam NaCl. Adapun reaksi hidrolisis pemutusan ikatan glikosida yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Reaksi hidrolisis yang merupakan reaksi bersifat *reversible* (bolak-balik), sehingga harus dilakukan penetralan agar ikatan glikosida antara glikon dan aglikon tidak terbentuk kembali. Penetralan pada hidrolisis dilakukan dengan penambahan natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), pada proses menghentikan reaksi hidrolisis ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung gas  $\text{CO}_2$  yang mengidentifikasi bahwa HCl dan  $\text{NaHCO}_3$  sudah bereaksi. Kemudian proses ini dihentikan setelah mencapai pH 7 (netral). Dugaan reaksi antara HCl dan  $\text{NaHCO}_3$  ditunjukkan pada Gambar 2.3.

Hidrolisat yang diperoleh kemudian dipartisi (ekstraksi cair-cair) dengan menggunakan pelarut etil asetat. Pelarut ini bersifat semi polar sehingga dapat melarutkan senyawa yang bersifat semi polar seperti senyawa flavonoid. Proses partisi menghasilkan dua fasa cairan yaitu fasa air pada lapisan bawah dan fasa organik pada lapisan atas. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk diambil fasa organiknya yang diduga mengandung senyawa flavonoid. Dari 5 gram ekstrak etanol didapatkan hasil rendemen 2,36% dengan berat ekstrak pekat 0,1184 (Lampiran 4.2) berwarna coklat kehijauan.

#### 4.4 Uji Fitokimia (Senyawa Flavonoid)

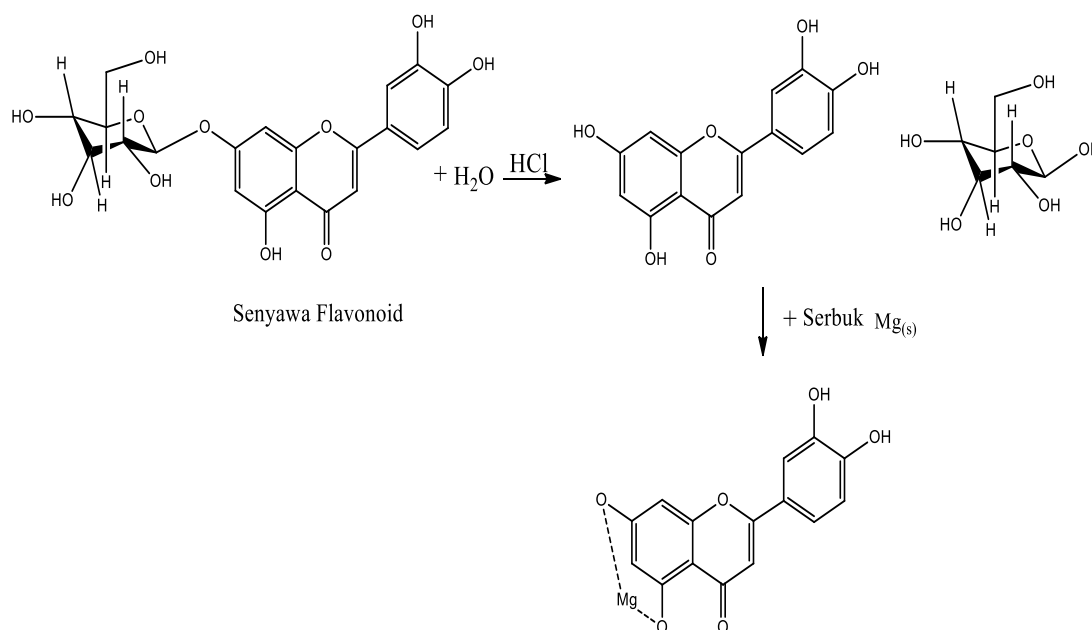
Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid yang terdapat pada sampel hasil partisi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). Uji ini dilakukan dengan diambil 1 mg ekstrak pekat hasil partisi dengan ditambahkan etanol bertujuan untuk melarutkan sampel. Selanjutnya ditambahkan bubuk logam Mg dan HCl pekat. Pada penambahan HCl pekat bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron sehingga terbentuk garam flavilium dimana proses reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl pekat. Hasil dari uji yang telah dilakukan, ekstrak pekat partisi daun katuk mengandung senyawa flavonoid, dengan ditandainya perubahan warna dari hijau menjadi warna kuning jingga ditunjukkan pada Gambar 4.2. Adanya perubahan warna hijau menjadi warna merah, kuning atau jingga, merupakan tanda bahwa adanya sebuah garam flavinium yang terbentuk (Masrihanah, 2020).



Gambar 4.2 Perubahan warna pada uji fitokimia flavonoid (a) sebelum penambahan bubuk Mg dan HCl pekat (b) sesudah penambahan bubuk mg dan HCl pekat.



Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid dimaksudkan untuk menghidrolisis *O*-glikosida flavonoid menjadi aglikonnya, sehingga glikosida akan tergantikan dengan H<sup>+</sup> dari HCl karena sifatnya yang elektrofilik (Masrihanah, 2020). Adapun reaksi dugaan antara flavonoid dengan Mg beserta HCl pekat pada Gambar 4.3.



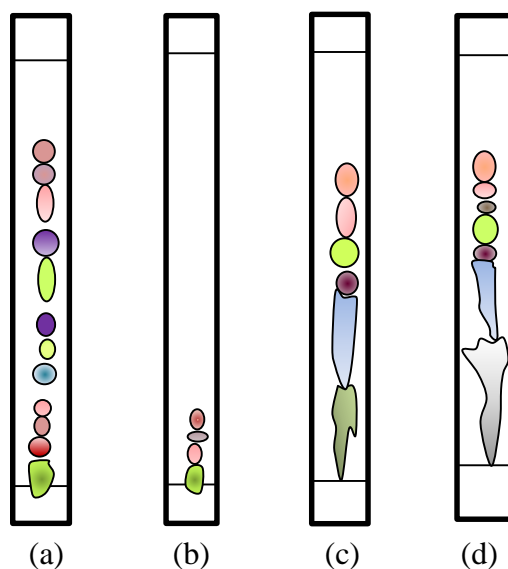
Gambar 4.3 Reaksi dugaan senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Iskandar, 2020).

#### 4.5 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTA

Pemisahan senyawa flavonoid dengan menggunakan KLTA bertujuan untuk mencari variasi dan eluen yang dapat memisahkan komponen senyawa dari fraksi etil asetat. Pemisahan senyawa flavonoid dilakukan untuk mencari eluen yang dapat memisahkan senyawa dari komponen ekstrak pekat partisi daun katuk dengan baik. Eluen baik yang menghasilkan banyak noda dan menghasilkan pemisahan noda baik, serta yang tidak berekor dan jarak antar satu noda ke noda

lainnya tidak tumpang tindih (memiliki jarak yang jelas antar noda) (Zirconia, dkk., 2015). KLTA ini menggunakan dua jenis campuran eluen yaitu BAA (*n*-butanol: etil asetat: air) dan *n*-heksana dengan etil asetat. Masing-masing eluen memiliki dua variasi konsentrasi eluen untuk BAA (2:2:6) menurut Sharma dan Janmeda, (2017) dan 4:1:5 menurut Masrihanah, (2020) serta *n*-heksana dengan etil asetat (5:5) menurut Rusdi, dkk., (2018) dan (8:2) menurut Mabruroh, dkk., (2019).

Plat yang digunakan berukuran 1x 10 cm, dengan menggunakan variasi eluen yang telah ditentukan. Pengamatan pola pemisahan dilakukan di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm. Spot bercak warna yang diduga sebagai senyawa flavonoid menurut Markham, (1988) bercak noda berwarna hijau kekuningan, biru, jingga, dan lembayung baik sebelum maupun sesudah diuapi amonia di bawah lampu UV 366 nm atau bercak ungu di bawah lampu UV 366 nm (Rusdi, dkk., 2018). Jumlah noda yang terbentuk dari 4 variasi eluen terangkum pada Tabel 4.1.



Gambar 4.4 Hasil KLTA flavonoid dengan beberapa variasi eluen (a) *n*-heksana: etil asetat (5:5), (b) *n*-heksana: etil asetat (8:2), (c) *n*-butanol: etil asetat: air (2:2:6) dan (d) *n*-butanol: etil asetat: air (4:1:5)

Tabel 4.1 Jumlah noda yang terbentuk pada KLTA

| No | Fasa Gerak                                    | Jumlah Spot | Jarak (cm) |       | Nilai $R_f$ | Warna Noda Pada Lampu UV 366 nm | Dugaan Senyawa |
|----|---|-------------|------------|-------|-------------|---------------------------------|----------------|
|    |   |             | Noda       | Eluen |             |                                 |                |
| 1  | <i>n</i> -Heksana-Etil Asetat (5:5)           | 11          | 0,5        | 8     | 0,0625      | Merah                           | Triterpenoid   |
|    |   |             | 1          | 8     | 0,125       | Jingga                          | Flavonoid      |
|    |   |             | 1,4        | 8     | 0,175       | Merah Jambu                     | Triterpenoid   |
|    |   |             | 2          | 8     | 0,25        | Biru                            | Flavonoid      |
|    |   |             | 2,5        | 8     | 0,3125      | Hijau Kekuningan                | Flavonoid      |
|    |   |             | 3          | 8     | 0,375       | Ungu                            | Flavonoid      |
|    |   |             | 3,6        | 8     | 0,475       | Hijau                           | Steroid        |
|    |   |             | 4,6        | 8     | 0,575       | Ungu                            | Flavonoid      |
|    |   |             | 5,4        | 8     | 0,675       | Merah Muda                      | Triterpenoid   |
|    |   |             | 6,1        | 8     | 0,7625      | Jingga                          | Flavonoid      |
|    |   |             | 6,6        | 8     | 0,825       | Jingga                          | Flavonoid      |
| 2  | <i>n</i> -Heksana-Etil Asetat (8:2)           | 3           | 0,4        | 8     | 0,05        | Merah Muda                      | Triterpenoid   |
|    |   |             | 0,8        | 8     | 0,1         | Ungu                            | Flavonoid      |
|    |   |             | 1,2        | 8     | 0,15        | Jingga                          | Flavonoid      |
| 3  | <i>n</i> -Butanol-Asam Asetat-Aquades (2:2:6) | 5           | 2,3        | 8     | 0,2875      | Biru                            | Flavonoid      |
|    |   |             | 4,6        | 8     | 0,575       | Ungu Tua                        | Tanin          |
|    |   |             | 5,1        | 8     | 0,6375      | Hijau Kekuningan                | Flavonoid      |
|    |   |             | 5,7        | 8     | 0,7125      | Merah Jambu                     | Triterpenoid   |
|    |   |             | 6,1        | 8     | 0,7625      | Jingga                          | Flavonoid      |
| 4  | <i>n</i> -Butanol-Asam Asetat-Aquades (4:1:5) | 6           | 2,7        | 8     | 0,3375      | Biru                            | Flavonoid      |
|    |   |             | 3,9        | 8     | 0,4875      | Ungu Tua                        | Tanin          |
|    |   |             | 4,4        | 8     | 0,55        | Hijau Kekuningan                | Favonoid       |
|    |   |             | 5,1        | 8     | 0,6575      | Coklat                          | Alkolid        |
|    |   |             | 5,5        | 8     | 0,6875      | Merah Jambu                     | Triterpenoid   |
|    |   |             | 6,1        | 8     | 0,7625      | Jingga                          | Flavonoid      |

Berdasarkan Tabel 4.1 dan Gambar 4.4 dapat diketahui bahwa adanya macam-macam senyawa yang terdeteksi dengan menghasilkan warna senyawa secara alami atau berfluoresensi dengan menyerap sinar UV yang diberikan. Senyawa tersebut memiliki warna fluoresensi yang berbeda-beda sesuai dengan jenis senyawanya. Pelarut *n*-heksana: etil asetat pada penelitian Purwantoro, (2019) spot dengan warna merah diidentifikasi sebagai senyawa triterpenoid dan warna hijau teridentifikasi sebagai steroid. Uji fitokimia menggunakan KLT dengan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (BAA) menghasilkan spot warna ungu tua atau ungu kemerahan diidentifikasi sebagai senyawa tanin (Hayati, dkk., 2010). Identifikasi senyawa alkaloid menggunakan KLT pada penelitian Masrihanah, (2020) spot berwarna coklat atau coklat kehitaman diidentifikasi sebagai alkaloid. Salah satu senyawa yang memiliki warna fluoresensi khas yaitu flavonoid, senyawa tersebut ketika disinari oleh lampu UV akan menghasilkan warna: Lembayung gelap, biru muda, kuning, jingga, hijau-kuning, hijau-biru, merah jingga, dan ungu (Markham, 1988).

Tabel 4.1 menunjukkan terdapat beberapa noda yang menandakan adanya senyawa flavonoid, dengan berbagai pola pemisahan yang berbeda pada tiap masing-masing variasi eluen. Dari keempat variasi eluen, yang baik digunakan untuk pemisahan senyawa flavonoid merupakan eluen *n*-heksana-etil asetat (5:5), karena eluen ini dapat memisahkan senyawa dengan baik serta menghasilkan senyawa diduga senyawa flavonoid paling banyak dengan pola pemisahan baik serta tidak memiliki ekor. Pemisahan dengan eluen *n*-heksana-etil asetat (8:2), menghasilkan sedikit spot dan menghasilkan senyawa yang diduga senyawa flavonoid, kemungkinan dikarenakan sifat flavonoid merupakan semi-polar

sedangkan dengan perbandingan tersebut senyawa terduga tidak dapat terpisah dengan baik karena jumlah *n*-heksana (*non-polar*) terlalu banyak yang mengakibatkan pola pemisahannya tidak baik serta tidak menghasilkan spot banyak. Pada variasi eluen BAA (2:2:6) menghasilkan lima spot dengan adanya dugaan senyawa flavonoid dan BAA (4:1:5) menghasilkan enam spot dengan adanya dugaan senyawa flavonoid namun kedua variasi tersebut tidak memiliki pola pemisahan yang baik serta keduanya memiliki ekor berwarna putih.

#### **4.6 Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLTP**

Pemisahan dengan KLTP bertujuan untuk memisahkan dan mendapatkan senyawa flavonoid lebih banyak dengan menggunakan plat KLT yang berukuran 10 x 20 cm. Eluen yang digunakan merupakan eluen yang baik pada pemisahan KLTA yaitu 5:5 *n*-heksana: etil asetat. Setelah identifikasi hasil pemisahan menggunakan KLTP menghasilkan 18 spot yang ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Berdasarkan hasil uji pada Tabel 4.2 setelah penambahan pereaksi amonia tidak ada yang mengalami perubahan warna. Menurut penjelasan Markham (1988) noda yang berwarna merah jingga dan merah jambu akan menunjukkan hasil positif flavonoid ketika mengalami perubahan warna menjadi biru setelah disemprot amonia, kecoklatan harus dianggap bukan flavonoid sebelum diperiksa lebih lanjut dengan UV-Vis. Sedangkan ketika penambahan amonia tidak mengalami perubahan warna seperti noda yang berwarna lembayung, biru, kuning, hijau-kuning, dan hijau-biru akan menunjukkan hasil positif flavonoid dengan perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan setelah disemprot dengan amonia (Marhkam, 1988). Pada plat KLTP noda positif senyawa flavonoid, kemudian dikerok serta

dilarutkan dengan pelarutnya dan diuapkan. Isolat flavonoid kemudian diidentifikasi lebih lanjut menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 4.2 Hasil pemisahan senyawa flavonoid menggunakan KLTP

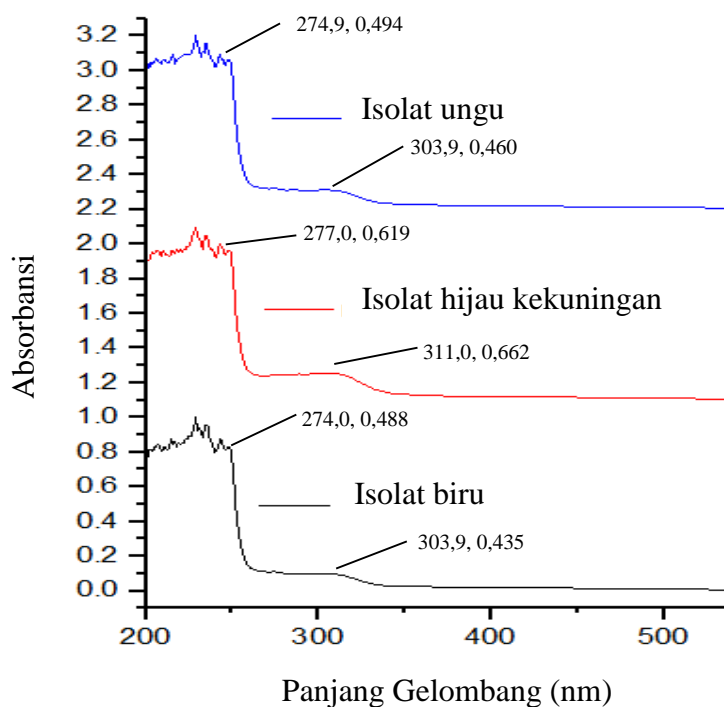
| No Spot  | Jarak Tempuh |                 | Nilai $R_f$   | Warna Noda Tanpa Amonia | Warna Noda dengan Amonia | Dugaan Senyawa                 |
|----------|--------------|-----------------|---------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------------|
|          | Spot (cm)    | Fasa Gerak (cm) |               |                         |                          |                                |
| 1        | 1            | 18              | 0,0556        | Ungu kehitaman          | Ungu kehitaman           | Tanin <sup>(c)</sup>           |
| 2        | 1,3          | 18              | 0,0722        | Merah muda              | Merah muda               | Triterpenoid <sup>(d)</sup>    |
| 3        | 1,9          | 18              | 0,1056        | Jingga                  | Jingga                   | Flavonoid <sup>(b)</sup>       |
| 4        | 2,3          | 18              | 0,1278        | Ungu                    | Ungu                     | Flavonoid <sup>(a)</sup>       |
| 5        | 2,9          | 18              | 0,1611        | Merah muda              | Merah muda               | Triterpenoid <sup>(c)</sup>    |
| <b>6</b> | <b>3,5</b>   | <b>18</b>       | <b>0,1944</b> | <b>Biru</b>             | <b>Biru</b>              | <b>Flavonoid<sup>(b)</sup></b> |
| <b>7</b> | <b>5</b>     | <b>18</b>       | <b>0,2778</b> | <b>Hijau kekuningan</b> | <b>Hijau kekuningan</b>  | <b>Flavonoid<sup>(a)</sup></b> |
| <b>8</b> | <b>6,1</b>   | <b>18</b>       | <b>0,3389</b> | <b>Ungu</b>             | <b>Ungu</b>              | <b>Flavonoid<sup>(b)</sup></b> |
| 9        | 7            | 18              | 0,3889        | Biru                    | Biru                     | Flavonoid <sup>(b)</sup>       |
| 10       | 8,9          | 18              | 0,4944        | Hijau kekuningan        | Hijau kekuningan         | Flavonoid <sup>(a)</sup>       |
| 11       | 10,4         | 18              | 0,5778        | Biru tua                | Biru tua                 | Alkaloid <sup>(c)</sup>        |
| 12       | 11           | 18              | 0,6111        | Ungu tua                | Ungu tua                 | Tanin <sup>(c)</sup>           |
| 13       | 12           | 18              | 0,6667        | Merah muda              | Merah muda               | Triterpenoid <sup>(d)</sup>    |
| 14       | 13,9         | 18              | 0,7722        | Jingga                  | Jingga                   | Flavonoid <sup>(a)</sup>       |
| 15       | 14,9         | 18              | 0,8278        | Ungu tua                | Ungu tua                 | Tanin <sup>(c)</sup>           |
| 16       | 16,3         | 18              | 0,9056        | Biru                    | Biru                     | Flavonoid <sup>(b)</sup>       |
| 17       | 16,7         | 18              | 0,9278        | Merah muda              | Merah muda               | Triterpenoid <sup>(d)</sup>    |
| 18       | 17           | 18              | 0,9444        | Hijau                   | Hijau                    | Steroid <sup>(d)</sup>         |

Keterangan: (a) Rusdi, dkk., 2018 (b) Marhkam, 1988 (c) Masrihana, 2020 dan (d) Purwantoro, 2019.

Hasil KLTP dengan penyemprotan amonia menghasilkan beberapa spot positif senyawa flavonoid yang terdeteksi oleh warna fluoresensi yaitu warna ungu, hijau-kekuningan, dan biru. Menurut penelitian Rusdi, dkk. (2020) pada KLT fraksi etil asetat dengan ditandai timbulnya bercak berwarna ungu di bawah sinar UV 366 nm setelah diuapi amonia. Flavonoid yang terdeteksi diduga merupakan jenis flavon atau flavonol (aglikon flavonoid polar), ataupun isoflavon, dihidroflavon dan flavanon (aglikon flavonoid *non-polar*). Spot warna biru menggunakan sinar UV dengan diberi amonia, jenis flavonoid yang mungkin yaitu jenis flavanon

sedangkan warna hijau-kuning kemungkinan jenis flavonoid auron dan flavanon (Markham 1988).

#### 4.7 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 4.5 Hasil spektra UV-Vis isolat 6 (Biru), 7 (Hijau kekuningan) dan 8 (Ungu)

Tabel 4.3 Hasil panjang gelombang maksimum spektra UV-Vis Isolat 6, 7 dan 8

| $\lambda_{\text{Maks}}$ |          |          | Transisi Elektron       | Gugus Fungsi |
|-------------------------|----------|----------|-------------------------|--------------|
| Isolat 6                | Isolat 7 | Isolat 8 |                         |              |
| 303,9                   | 311      | 303,9    | $n \rightarrow \pi^*$   | C=O          |
| 274                     | 277      | 274,9    | $\pi \rightarrow \pi^*$ | C=C          |
| 248,1                   | 248,1    | 248,1    | $\pi \rightarrow \pi^*$ | C=C          |
| 234,9                   | 243,1    | 234,9    | $\pi \rightarrow \pi^*$ | C=C          |

Berdasarkan Tabel 4.3 dan Gambar 4.5 identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada hasil KLTP isolat 6, 7 dan 8. Hasil identifikasi pengukuran panjang gelombang maksimum sampel isolat 6, 7 dan 8 menggunakan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan pita I secara berturut-turut

yaitu 303,9, 311 dan 303,9 nm, pada panjang gelombang tersebut merupakan transisi elektron  $n \rightarrow \pi^*$  gugus karbonil. Kromofor yang memberikan transisi dari  $n \rightarrow \pi^*$  memberikan serapan sekitar pada  $\lambda_{\text{maks}}$  300 nm seperti ikatan C=O (Dachriyanus, 2004). Pada pita II isolat 6, 7 dan 8 menghasilkan panjang gelombang 274, 277 dan 274,9 nm merupakan transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  ikatan rangkap C=C. Menurut Dachriyanus, (2004), transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  menghasilkan  $\lambda_{\text{maks}}$  sekitar 200 nm, maka kemungkinan pada panjang gelombang maksimum yang dihasilkan pada panjang gelombang sekitar 200 nm merupakan transisi elektron ikatan rangkap. Dari hasil panjang gelombang maksimum pada Tabel 4.3 adanya panjang gelombang maksimum senyawa flavonoid. Menurut Marhkam (1988) panjang gelombang maksimum flavonoid pada pita II memiliki rentang 230-285 nm serta pita I pada rentang 300-550 nm. Panjang gelombang <230 nm kemungkinan adanya senyawa lain yang terbawa ketika pengerokan sampel pada KLTP serta pelarut yang digunakan adalah etil asetat bukan etanol atau metanol. Pelarut yang baik digunakan untuk spektrum flavonoid merupakan metanol (Marhkam, 1988).

#### **4.8 Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan FTIR**

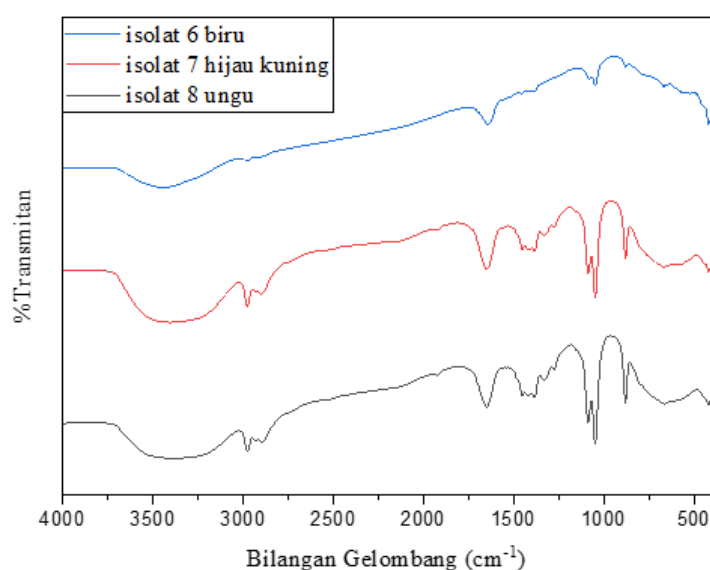
Identifikasi senyawa menggunakan FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi suatu senyawa yang menghasilkan pita khas senyawa tersebut. Molekul suatu senyawa yang berintraksi dengan energi mengakibatkan terjadinya transisi sehingga menimbulkan vibrasi molekul. Pita khas yang ditimbulkan dari hasil FTIR menunjukkan gugus fungsi setiap ikatan-ikatan pada molekul suatu



senyawa. Panjang gelombang hasil FTIR isolat 6, 7 dan 8 dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.5

Berdasarkan interpretasi pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.4. Hasil analisis pita serapan isolat 6, 7 dan 8 memiliki pita serapan yang sama terdapat pada vibrasi *stretching* O-H, vibrasi *stretching*  $C_{sp^3}$ -H alkana, vibrasi *stretching* C=C, serapan *overtone* yang menunjukkan ciri khas dari senyawa aromatik, dan vibrasi *stretching* C-O alkohol. Menunjukkan bahwa gugus fungsi yang teridentifikasi dari hasil panjang gelombang FTIR isolat 6, 7 dan 8 menandakan adanya gugus fungsi senyawa flavonoid. Serapan khas pada gugus fungsi yaitu C-H dan C=C aromatik, OH, C=C, dan C-O alkohol merupakan hasil positif flavonoid ketika diidentifikasi menggunakan FTIR (Ekawati, dkk. 2017).

Isolat 6 memiliki bilangan gelombang yang sedikit berbeda, dengan memiliki pita serapan yang tidak tajam sedangkan isolat 7 dan 8 memiliki pita serapan yang tajam. Isolat 7 serta 8 memiliki ikatan  $C_{sp^3}$ -H *stretching* alkana simetris dan asimetris, C-O *stretching* alkohol sekunder dan primer, ikatan HC=CH *bending*, C-H *bending* alifatik sedangkan isolat 6 tidak terdeteksi adanya alkohol sekunder, hal ini kemungkinan isolat 6 merupakan jenis senyawa flavonoid dengan struktur yang berbeda dengan isolat 7 dan 8 sebagaimana dengan gugus fungsi yang terbaca oleh spektrofotometer IR. Sedangkan isolat 7 dan 8 memiliki pita serapan yang mirip kemungkinan jenis flavonoid yang sama.



Gambar 4.6 Hasil FTIR isolat 6, 7 dan 8

Tabel 4.4 Interpretasi FTIR hasil KLTP isolat 6, 7 dan 8

| Bilangan Gelombang<br>(cm <sup>-1</sup> ) |           |           | Rentang Pustaka  | Intensitas | Jenis vibrasi   |
|---|-----------|-----------|------------------|------------|---|
| Isolat 6                                  | Isolat 7  | Isolat 8  |                  |            |   |
| 3444                                      | 3405      | 3381      | 3000-3700 (a)    | Kuat       | O-H <i>stretching</i><br>ikatan hidrogen  |
| 2978                                      | 2976      | 2976      | 2700-3000<br>(b) | Sedang     | C <sub>sp</sub> <sup>3</sup> -H <i>Stretching</i><br>alkana asimetris<br>C <sub>sp</sub> <sup>3</sup> -H <i>Stretching</i><br>alkana simetris |
| -   | 2898      | 2896      |                  |            |   |
| 2000-1700                                 | 2000-1700 | 2000-1700 | 2000-1700        | Lemah      | <i>Overtone</i>   |
| 1649                                      | 1649      | 1650      | 1670-1625 (c)    | Kuat       | C=C <i>Stretching</i>   |
| -   | 1384      | 1383      | 1390-1310 (a)    | Sedang     | HC=CH <i>Bending</i>  |
| -   | 1331      | 1331      | 1470-1300 (a)    | Sedang     | C-H <i>Bending</i> alifatik   |
| -   | 1086      | 1087      | 1124-1087 (a)    | Kuat       | C-O <i>Stretching</i><br>alkohol  |
| 1047                                      | 1047      | 1048      | 1085-1040 (a)    | Kuat       | C-O <i>Stretching</i><br>alkohol  |
| -   | 880       | 880       | 1000-880         | Kuat       | C <sub>Sp</sub> <sup>3</sup> -H <i>Rocking</i>  |
| 668                                       | 668       | 667       | 690-610 (c)      | Kuat       | =C-H <i>Wagging</i>   |
| 547                                       | -         | -         | 560-420 (c)      | Sedang     | -C=C <i>Bending</i>   |

Keterangan: (a) Creswel, dkk., (2005), (b) Mabruroh, dkk., (2019), (c) Socrates, (2001)

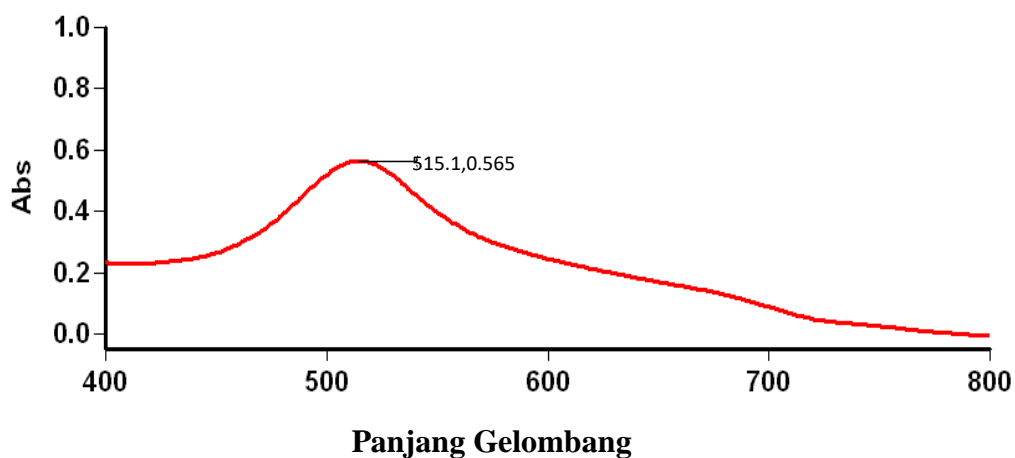
Identifikasi senyawa isolat 6, 7 dan 8 tidak memiliki perbedaan yang terlalu signifikan, dengan pita serapan dan bilangan gelombang yang hampir sama. Hasil

analisis pita serapan terdapat vibrasi *stretching* O-H pada bilangan gelombang 3444, 3405 dan 3381  $\text{cm}^{-1}$  dengan puncak melebar yang menandakan O-H membentuk ikatan hidrogen, serta diperkuat dengan adanya vibrasi *stretching* C-O pada pita serapan 1047 (isolat 6 dan 7) dan 1048  $\text{cm}^{-1}$  (isolat 8) menunjukkan gugus C-O alkohol. Serapan tersebut menunjukkan adanya gugus OH alkohol yang terikat pada atom karbon. Pita serapan pada 2978 (isolat 6) dan 2976  $\text{cm}^{-1}$  (isolat 7 dan 8) yang menunjukkan adanya vibrasi *stretching*  $\text{C}_{sp^3}\text{-H}$  alkana asimetris serta pada serapan 2898 (isolat 7) dan 2896  $\text{cm}^{-1}$  (isolat 8) adanya vibrasi *stretching*  $\text{C}_{sp^3}\text{-H}$  alkana simetris, serta diperkuat dengan serapan 1331  $\text{cm}^{-1}$  (isolat 7 dan 8) vibrasi *bending* C-H alifatik. Pita serapan bilangan gelombang 2000-1700  $\text{cm}^{-1}$  terdapat daerah serapan *overtone* yang menunjukkan ciri khas dari senyawa aromatik. Serapan ini didukung dengan adanya pita serapan pada 1384 (isolat 7) dan 1383  $\text{cm}^{-1}$  (isolat 8) menunjukkan vibrasi *bending* HC=CH merupakan salah satu gugus aromatik yang terkonjugasi dan diperkuat dengan pita serapan 1649 (isolat 6 dan 7) dan 1650  $\text{cm}^{-1}$  (isolat 8) menunjukkan vibrasi *stretching* C=C yang merupakan gugus aromatik. Sehingga dari gugus fungsi yang ada pada isolat 6, 7 dan 8 teridentifikasi kemungkinan adanya senyawa flavonoid.

#### 4.9 Uji Antioksidan Daun Katuk

Uji aktivitas antioksidan daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) diawali dengan mengukur panjang gelombang maksimum larutan DPPH yang digunakan dengan spektrofotometer UV-Vis. Hal ini bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum pada DPPH serta pengukuran panjang gelombang DPPH sebagai kontrol untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran dan

menjaga kekonstanan konsentrasi DPPH dalam berbagai pengukuran (Masrihanah, 2020). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM yaitu 515,1 nm. Panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM dapat dilihat pada Gambar 4.5. Hasil panjang gelombang maksimum DPPH yang didapatkan sesuai dengan rujukan Molyneux, dkk., (2004) panjang gelombang maksimum DPPH berada pada rentang 515-520 nm karena reagen ini memiliki warna komplemeter ungu.



Gambar 4.7 Panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM

Uji aktivitas antioksidan daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) isolat KLTP dilakukan dengan lima konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Sampel senyawa flavonoid yang diuji aktivitas antioksidannya yaitu isolat 6, 7 dan 8. Pengukuran antioksidan dengan mengukur absorbansi kontrol terlebih dahulu bertujuan untuk mengetahui absorbansi DPPH yang belum direduksi oleh sampel. Perbandingan antara DPPH yang telah diberikan sampel akan berbeda dengan DPPH yang tidak diberi sampel (kontrol), karena adanya reduksi antara radikal bebas dengan antioksidan pada sampel dan menghasilkan absorbansi yang berbeda pada spektrofotomer UV-Vis. Sampel yang akan diuji aktivitas antioksidan diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C karena pada suhu tersebut reaksi

antara radikal bebas dengan antioksidan senyawa flavonoid berlangsung lebih optimal.

Pengukuran aktivitas antioksidan secara fisik dapat diamati dengan terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi ungu muda atau kuning ketika DPPH bereaksi dengan sampel berupa antioksidan yang mendonorkan atom hidrogen. Menurut Toripah, atom hidrogen yang didonorkan terhadap radikal bebas DPPH akan membentuk *1,1-difenil-2-picrylhydrazine* (DPPH-H). Setelah diukur absorbansi sampel dan absorbansi kontrol pada spektrofotometer UV-Vis akan diketahui % aktivitas antioksidan dan nilai  $IC_{50}$  isolat flavonoid hasil KLTP dapat dilihat pada Tabel 4.5. Hasil nilai absorbansi sampel yang telah direduksi DPPH dengan nilai absorbansi kontrol merupakan absorbansi sisa radikal bebas DPPH yang tidak bereaksi (Masrihanan, 2020).

Tabel 4.5 Hasil % aktivitas antioksidan dan nilai  $IC_{50}$  isolat flavonoid hasil KLTP

| <b>Sampel</b>                   | <b>Konsentrasi (ppm)</b> | <b>%Aktivitas Antioksidan</b> | <b>Nilai <math>IC_{50}</math> (ppm)</b> |
|---------------------------------|--------------------------|-------------------------------|---|
| Isolat 6 warna Biru             | 10                       | 7,1044                        | 83,74                                   |
|                                 | 20                       | 9,6311                        |   |
|                                 | 30                       | 22,5331                       |   |
|                                 | 40                       | 29,8714                       |   |
|                                 | 50                       | 31,7164                       |   |
| Isolat 7 warna Hijau kekuningan | 10                       | 27,2988                       | 44,02                                   |
|                                 | 20                       | 29,7873                       |   |
|                                 | 30                       | 40,7991                       |   |
|                                 | 40                       | 48,3672                       |   |
|                                 | 50                       | 55,2101                       |   |
| Isolat 8 warna Ungu             | 10                       | 9,7683                        | 44,13                                   |
|                                 | 20                       | 32,3986                       |   |
|                                 | 30                       | 45,0949                       |   |
|                                 | 40                       | 47,5663                       |   |
|                                 | 50                       |                               |   |

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa isolat flavonoid hasil KLTP pada isolat 6, 7 dan 8 memiliki aktivitas antioksidan yang cukup besar. Isolat 6 warna biru, isolat 7 warna hijau kekuningan dan isolat 8 warna ungu mendapatkan nilai  $IC_{50}$  secara berturut-turut yaitu sebesar 83,7; 44,02 dan 44, 13 ppm. Pada tingkatan kekuatan antioksidan isolat flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan sangat kuat. Pada isolat 6 warna biru memiliki nilai  $IC_{50}$  83,7 ppm menurut Hikmawati dan Fatmawati (2019), Pada tingkatan kekuatan antioksidan nilai  $IC_{50}$  50-100 ppm memiliki intensitas yang kuat. Pada isolat 7 warna hijau kekuningan dan isolat 8 warna ungu memiliki nilai  $IC_{50}$  44,02 dan 44,13 ppm, menurut Hikmawati dan Fatmawati (2019), pada tingkatan kekuatan antioksidan nilai  $IC_{50}$  <50 ppm memiliki intensitas yang sangat kuat.

Aktivitas antioksidan isolat flavonoid pada isolat 6 memiliki perbedaan aktivitas antioksidan yang cukup besar dengan isolat 7 dan 8. Jika dilihat dari hasil identifikasi senyawa menggunakan FTIR hasilnya sama. Isolat 7 dan 8 memiliki pita serapan dan bilangan gelombang yang sangat mirip serta memiliki aktivitas antioksidan dengan intensitas yang sangat kuat kemungkinan kedua isolat merupakan jenis flavonoid yang sama. Sedangkan isolat 6 berbeda dengan pita serapan yang tidak tajam dan munculnya bilangan gelombang yang sedikit, serta memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dari isolat 7 dan 8 sehingga memiliki kemungkinan isolat 6 merupakan jenis flavonoid yang berbeda dengan isolat yang lain.

Berdasarkan identifikasi FTIR dan UV-Vis adanya gugus fungsi yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan yaitu gugus fungsi C=C, C=O dan C-O. Gugus fungsi tersebut akan mendonorkan atom hidrogen yang berfungsi sebagai

antioksidan dengan meredam radikal bebas pada DPPH. Gugus-gugus fungsi tersebut yang mengikat atom hidrogen mengalami kereaktifan dengan kemungkinan menimbulkan induksi atau resonansi yang akan mengakibatkan gugus fungsi menjadi lebih parsial negatif  $\delta^-$ , sehingga atom hidrogen yang berikatan dengan gugus fungsi akan menjadi lebih parsial positif  $\delta^+$ . Atom hidrogen  $\delta^+$  ini akan lebih mudah dilepaskan sehingga akan berikatan dengan radikal bebas.

#### 4.10 Integrasi Penelitian dalam Perspektif Islam

Allah SWT telah menciptakan segala hal yang sangat bermanfaat bagi umat manusia salah satunya yaitu tumbuh-tumbuhan. Tumbuhan yang bermanfaat yang diciptakan oleh Allah SWT salah satunya yaitu tanaman katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr). Tanaman katuk sendiri memiliki manfaat yang cukup banyak ketika dikonsumsi, karena kandungan senyawa yang ada dalam daun katuk sangat banyak salah satunya yaitu flavonoid. Flavonoid dalam daun katuk dipenelitian ini memiliki manfaat sebagai antioksidan yang cukup besar dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 83,7; 44,02 dan 44, 13 ppm. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredamkan radikal bebas yang menyebabkan sebuah penyakit. Segala macam penyakit yang Allah SWT berikan pasti ada obat atau penawarnya dan obat tersebut tak lain berasal dari Allah SWT. Hal ini sesuai dengan sabda Rasulullah SAW dalam HR. Bukhari: 5354:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, kecuali Allah juga menurunkan obatnya”

Hadist tersebut mengajarkan pada umat manusia bahwa Allah SWT senantiasa selalu berbuat adil kepada umatnya. Bahwa segala penyakit yang Allah SWT turunkan senantiasa selalu ada penawarnya. Tiada penyakit yang tidak memiliki obatnya sungguh Allah maha besar. Obat dan penyakit adalah rahmat yang diberikan oleh Allah SWT kepada hamba-Nya. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam al-Qur'an surah asy Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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

Sebagaimana ayat di atas menjelaskan, sebagai umat manusia tentang ketersediaan tumbuhan obat-obatan yang telah Allah SWT tumbuhkan dari bumi-Nya. Salah satu tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tersebut yaitu daun katuk yang memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meredam radikal bebas sumber timbulnya sebuah penyakit. Sungguh Allah telah menciptakan segala hal berpasangan seperti penyakit pasti memiliki obatnya. Sungguh maha besar Allah yang telah menciptakan segalanya, hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam al-Qur'an surah ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۚ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا تُسَبِّحْنَاكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: *“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah*



*Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Maha Suci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka.”*

Surah diatas menjelaskan bahwa seluruh kerajaan langit dan bumi dengan segala isinya adalah milik Allah SWT, dan Allah Mahakuasa atas segala sesuatu terhadap ciptaan-Nya dengan memberinya kehidupan dan rezeki, mengatur, mematikan, membalas, dan menghitung setiap amal perbuatan manusia. Senantiasa sebagai umat muslim yang berfikir dan memiliki akal kita patut bersyukur dengan semua yang Allah ciptakan. Hal tersebut merupakan tanda-tanda kebesaran Allah SWT yang patut kita syukuri dan menjaganya. Patutnya sebagai umat manusia yang bertakwa kepada Allah senantiasa selalu bersyukur atas nikmat yang telah diberikan dan diciptakan Allah SWT. Bersyukur kepada-Nya, yang telah dijelaskan didalam al-Qur'an surah al Kautsar ayat 1:

إِنَّا أَعْطَيْنَاكَ الْكَوْثَرَ

Artinya: “*Sesungguhnya Kami telah memberikan kepadamu nikmat yang banyak.*”

Pada ayat ini Sayyid Qutb menafsirkannya dalam *Tafsir Fi Zilalil Quran*: “Sesungguhnya Kami telah memberikan kepadamu nikmat yang banyak dan melimpah ruah, yang tidak bisa dihalangi dan tidak putus-putusnya”. Sungguh kekuasaan Allah yang sangat dahsyat yang harus banyak disyukuri oleh seluruh umat manusia.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) positif terdapat senyawa flavonoid pada hasil isolat KLTP yaitu pada isolat 6, 7 dan 8. Hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis terdapat gugus fungsi C=C dan C=O serta hasil identifikasi FTIR terdapat gugus fungsi C=C, C-O, C-H dan O-H yang menandakan adanya senyawa flavonoid.
- b. Senyawa flavonoid hasil KLTP memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  83,74 (isolat 6), 44,02 (isolat 7) dan 44,13 ppm (isolat 8). Isolat 6 memiliki aktivitas antioksidan yang besar serta isolat 7 dan 8 memiliki aktivitas antioksidan yang sangat besar.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pemisahan senyawa flavonoid pada daun katuk agar dihasilkan isolat yang lebih maksimal seperti menggunakan pemisahan senyawa flavonoid dengan kromatografi kolom serta identifikasi menggunakan GC-MS atau LC-MS agar lebih spesifik jenis flavonoid yang didapatkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, Sukandar, D. dan Muawanah, A. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan*, 130-136.
- Adhiatama, I., Zainuddin, M. dan Rokhati, N. 2012. Hidrolisis Kitosan Menggunakan Katalis Asam Klorida (HCl). *Jurnal Teknik Kimia dan Industri*, 1 (1).
- Alfaridz, F. dan Amalia, R. 2018. *Review Jurnal: Klasifikasi Dan Aktivitas Farmakologi Dari Senyawa Aktif Flavonoid*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. Sumedang, 16 (3): 398-405
- Andini, D. 2014. Potential of Katuk Leaf (*Sauropus androgynus* L. Merr) As Aphrodisiac. *Medikal Journal of Lampung University*, 7 (3): 17-22.
- Anggraito, U.Y., dkk. 2018. Metabolit Sekunder Dari Tanaman: Aplikasi dan Produksi. Semarang. Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam. Penerbit UNESA.
- Anggraeni, O. N., Fasya, A. G., Abidin, M., dan Hanapi, A. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. *Alchemy*, 3(2).
- Arista, M. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80% dan 96% daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2 (2):1-16.
- Bunawan, H., Bunawan, S.N., Baharum, S.N. & Noor, N.M. 2015. *Review artikel: Sauropus Androgynus* (L.) Merr. induced bronchiolitis obliterans: from botanical studies to toxicology. *Jurnal Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015(ID 714158):1-7.
- Creswel, C. J., Olaf, A. R., & Malcolm, M. C. (2005). Analisis Spektrum Senyawa Organik. Bandung: ITB.
- Ekawati, A. M., Suirta. W. & Santi. R. S. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Daun Sumbukan (*Paederia foetida* L.) serta Uji Aktivitas Antioksidan. *Jurnal kimia*, 11(1):43-48
- Fasya A.G. 2016. Potensi Antikanker Dan Antioksidan Serta Identifikasi Isolat Steroid Mikroalga *Chlorella* Sp. *Laporan penelitian Individual*. UIN Malang.
- Fatimah Y.S. 2016. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode

Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Badan Tenaga Nuklir Nasional*. Serpong, Banten. 7: 22-33

- Fessenden, R.J. & Fessenden, J.S. 1982, *Kimia Organik*, diterjemahkan oleh Pudjaatmakan, A. H., Edisi Ketiga, Jilid 2, 417-418, 454-455, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Hikmawati N.P.E dan Fatmawati, S. 2019. Penelitian Mandiri Potensi Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynus (L.) Merr.*) Terhadap Radikal Bebas DPPH. *Penelitian Mandiri*. Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka.
- Iskandar, D. 2020. Aplikasi Uji Skrining Fitokimia Terhadap Daun Uncaria TomENTOSA Sebagai Bahan Utama Dalam Pembuatan The. *Jurnal Teknologi Technoscintia*. Program Studi Pengolahan Hasil Perkebunan, Politeknik Negeri Pontianak. 12 (2):153-158.
- Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S.A. 2019. *Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktivitas Farmakologi*. *Jurnal Farmaka*, 17 (2): 131-141
- Koirewoa, Y.A., Fatimawali & Wiyono, W.I. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*). *Jurnal Program studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado*, 47-52
- Maesaroh, k., Kurnia, D. & Anshori, J.L. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Jurnal of Chimica et Natura Acta*, 6 (2): 93-100
- Mabruroh, E.Q., Mursiti, S. & Kusumo, E. 2019. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Murbei (*Morus Alba Linn*). *Indonesian Journal of Chemical Science*. Universitas Negri Semarang. 2019- 8 (1)
- Mariana, L. Andayani, Y. & Gunawan, E.R. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*A. camansi*). *Jurnal Chem. Prog.* 6 (2): 50-55
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung.
- Masjid, S.T dan Muchtardi, M, 2018. Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr*). *Jurnal Farmaka*, 16 (2):
- Masrihana, A. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat, dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus andragynus L. Merr*), *Skripsi`*. Jurusan Kimia, Fakuktas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarın Jurnal of Science and Technology*, 26 (2): 211-219

- Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M. & Arsul, M.I. 2019. Kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak etanol daun anggur (*Vitis vinifera* L.). *Ad-Dawa'J.Pharm.* 2 (2): 95-102
- Nuari, s., Anam, S. & Khumaidi, A. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C Weber) Britton & Rose). *Jurnal Farmasi Galenika* (Galenika Journal of Pharmacy) 2017; 2 (2): 118–125.
- Nurdianti, L. & Tulisnah, L. 2017. Uji Etektifitas Antokosidan Krim Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus andragynus* L. Merr) terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(1), 87-96
- Nusantari, M. 2015. Potensi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynud* (L) Merr.) Terhadap Aktivitas Mikrobisda Sek Neutrofil yang dipapar *Streptococcus mutans*, *Skripsi*. Universitas Jember.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. & Chandra, S.R. 2016. Flavonoid: An Overview. *Journal of Nutritional Science*. 5: 1-15.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. & Peryasamy, L., 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Jurnal Ind J Clin Biochem*. 30(1):11–26.
- Purwanto, B. 2019. Uji Aktifitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi *n*-Heksan *Hydrilla verticillata*. *Skripsi*. Jurusan kimia, fakultas sains dan teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rifkia dan Prabowo. 2020. Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu terhadap Rendemen dan Kadar Total Flavonoid pada Ekstraksi Daun Moringa oleifera Lam. dengan Metode Ultrasonik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 17 (2): 387-395.
- Ritna, A., Anam, S. & Khumaidi, A. 2016. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* SP.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Jurnal of pharmacy*, jurusan farmasi, fakultas MIPA, Universitas Tadulako, palu. 2(2): 83-89.
- Rumagit, H. M. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons Lamellodysidea. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4 (3): 183-192.
- Rusdi, N.K., Hikmawati, N.P.E, Maifitrianti, Ulfah, Y.S., & Annisa, A.T. 2018. Aktivitas Afrodisiaka Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) Pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research* (PSR) Vol. 5 No. 3, 123-132.
- Saifudin, A., Suparti., Fuad, A. & Da'I, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun Zat Hara Tus Versus LG Dan Berbunga Merah. Surakarta Fakultas Farmasi Universitas

- Muhammadiyah. *jurnal penelitian sains dan teknologi*, 7 (7) :2006 92-102
- Santoso, U. 2018. Penggunaan Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) sebagai Suplemen Pakan pada Unggas. 1. Pengaruhnya terhadap Performa Ayam. *Jurnal Sains Perternakan Indonesia*, 1 (2): 151-156
- Sariningsih, P., Rita, S.W, & Puspawati N.M. 2015. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman (Jecq.) Merr*) Sebagai Pengendali Jamur *Fusarium Sp.* Pada Taman Buah Naga. *Jurnal kimia*. Jurusan kimia FMIPA Universitas Udayana. Bali. (1): 20-26
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (Isis Hippuris) *Technology Science and Engineering Journal*, 1 (3): 166-174
- Sayuti, K. dan Yenrina, R., 2015. *Antioksidan, Alami dan Sitetik*. Andalas University press. Padang.
- Sekarsari, S. Widarta, I.W.R & Jambe, A.A.G.N.A. 2019. Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8 (3): 267-277
- Sen, S., Chakroborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R. & De, Biplab. 2010. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3 (1): 91-100.
- Sharma dan janmeda, 2017. Extraction, isolation and identification of flavonoid from *Euphorbia neriifolia* leaves. *Arabian Journal of Chemistry*. King Saud Univercity: 10, 509–514
- Soebagio. 2002. *Kimia Analitik*, Universitas Negeri Makassar Fakultas MIPA, Makassar.
- Socrates, G. 2001. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies*. George Socrates. Formerly of Brunel, The University of West London, Middlesex. UK.
- Susanti, N.M.P., Budiman, I.N.A., dan Warditiani, N.K. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr.*). *Jurnal Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana*, 83-86
- Tandi, J., Melinda, B., Purwantari, A., & Widodo, A. 2020. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus*

- Esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis Kualitatif Dan Kuantitatif. KOVALEN. *Jurnal Riset kimia*. 6(1): 74-80
- Tanaya, V., Retnowati, R. & Suratmo. 2015. Fraksi Semi Polar Dari Daun Mangga Kasturi. *Student Journal*. Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.1 (1): 778-784
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B.T., & Jhonatan, J.G., 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Jurnal Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*. Yogyakarta: 1-7.
- Wang, X., Cao, J., Wu, Y., Wang, Q., & Xiao, J. 2016. Flavonoids, Antioxidant Potential, and Acetylcholinesterase Inhibition Activity of the Extracts from the Gametophyte and Archegoniophore of *Marchantia polymorpha* L. *Jurnal Molecules*, 21 (360): 1-7.
- Wang T.Y, Li, Q. & Bi, K.S. 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *asian journal of pharmaceutical sciences*.Shenyang. China. (13) 12–23.
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode CUPRAC, DPPH dan FRAP Serta Kolerasinya Dengan Fenol dan Flavonoid Pada Enam Tanaman, *Skripsi*. FMIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Winata, E.W. dan Yunianta. 2015. Ekstraksi Antosianin Buah Murbei (*Morus Alba* L.) Metode Ultrasonic Bath (Kajian Waktu dan Rasio Bahan: Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3 (2): 773-783.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Cetakan kelima. Yogyakarta: Penerbit Kanisus (Anggota IKAPI).
- Yati, S.J., Sumpono & Candra, I.M. 2018. Potensi Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Dari Bakteri Endofit Pada Daun *Moringa oleifera* L. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 2(1):82-87.
- Yuda, P.E.S.K., Chayaningsih, E. & Winarianthi, N.P.Y. 2017. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento* 3 (2): 61-70.
- Zuhra, C.F.J.B., Tarigan dan H, Sihotang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* (L) Merr.) *Jurnal Biologi Sumatera*, 3 (1): 7 – 10 ISSN1907-5537.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian

