

**UJI GOLONGAN SENYAWA AKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DAUN PETAI CINA (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit) HASIL
EKSTRAKSI MASERASI DAN SONIKASI**

SKRIPSI

Oleh:

**TIFANI TAMIMATUS SALSABILA
NIM. 18630097**



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

**UJI GOLONGAN SENYAWA AKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DAUN PETAI CINA (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit) HASIL
EKSTRAKSI MASERASI DAN SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
TIFANI TAMIMATUS SALSABILA
NIM. 18630097**

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

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

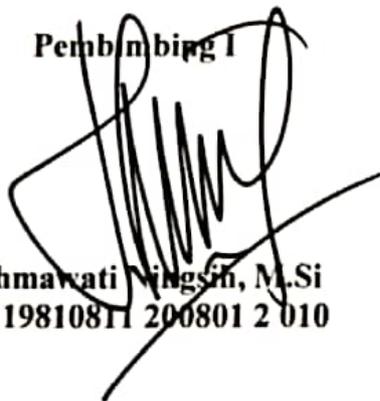
**UJI GOLONGAN SENYAWA AKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DAUN PETAI CINA (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) HASIL
EKSTRAKSI MASERASI DAN SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
TIFANI TAMIMATUS SALSABILA
NIM. 18630097**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 17 November 2022**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Rif'atul Mahmudah, M.Si
NIDT. 19830125 20160801 2 068**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



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

**UJI GOLONGAN SENYAWA AKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DAUN PETAI CINA (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) HASIL
EKSTRAKSI MASERASI DAN SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh :
TIFANI TAMIMATUS SALSABILA
NIM. 18630097**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 9 Desember 2022**

Penguji Utama	: Diana Candra Dewi, M.Si NIP. 19770720 200312 2 001	
Ketua Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	
Sekretaris Penguji	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	
Anggota Penguji	: Rifatul Mahmudah, M.Si NIDT. 19830125 20160801 2 068	

Mengetahui
Ketua Program Studi,

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



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tifani Tamimatus Salsabila
NIM : 18630097
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Golongan Senyawa Aktif dan Aktivitas Antioksidan
Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit)
Hasil Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi

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

Malang, 14 November 2022
Yang membuat pernyataan



Tifani Tamimatus Salsabila
NIM. 18630097

MOTTO

... حَسْبِيَ اللَّهُ لَا إِلَهَ إِلَّا هُوَ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَهُوَ رَبُّ الْعَرْشِ الْعَظِيمِ

... “Cukuplah Allah bagiku; tidak ada tuhan selain Dia. Hanya kepada-Nya aku bertawakal, dan Dia adalah Tuhan yang memiliki ‘Arsy (singgasana) yang agung”

Q.S At-Taubah : 129

“Jika kamu tidak tahu sakitnya terperosok ke dalam jurang, kamu tidak akan pernah tau indahnya sebuah puncak”

“Skripsi itu bukan sekedar karya tulisan, tapi bentuk nyata menghadapi diri sendiri”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin..

Puji syukur tiada henti kehadiran Allah SWT yang telah menggariskan takdir terbaik dari do'a-do'a yang senantiasa dipanjatkan sehingga tugas akhir saya yang masih jauh dari kata sempurna ini dapat terselesaikan dengan baik.

Lantunan Al-Fatihah, beriring shalawat, dan do'a tiada henti, saya persembahkan karya sederhana ini kepada:

Kedua orangtua saya, Ibu Timrotul Faiqoh dan Bapak Ahmad Munir yang menjadi role model saya dan tak pernah lelah memanjatkan do'a-do'a terbaik untuk anak-anaknya, memberikan dukungan baik materil maupun non-materiil yang tak terhingga untuk dapat menyelesaikan karya sederhana ini.

Para dosen dan seluruh laboran program studi kimia khususnya ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen pembimbing utama, ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si selaku pembimbing agama, ibu Armeida Dwi Ridlowati M, M.Si selaku dosen wali, dan mas abi selaku laboran organik yang telah membimbing dan memberikan banyak ilmu yang berarti baik pada proses perkuliahan maupun penelitian sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

Sahabat-sahabat saya Nur A'yunin yang selalu kebersamai dan memberi banyak suka cita, terimakasih sudah mau tumbuh bersama melewati banyak hal sejak kecil, M. Ikhlal Al-Khoir, Lisa Rohmatul Azizah, Asma'ul Husna yang telah menemani dan memberi banyak kebahagiaan.

Sahabat-sahabat saya sejak menapaki dunia perkuliahan, Trisna Silfia Agustin, Rizki Fitriana Dewi, Ainur Rohmah Melati, Rista Winda Novita dan Dwain Safira Rafi, terimakasih atas motivasi, nasehat, tempat curhat, dan kebahagiaan yang telah saya dapatkan dari kalian, terimakasih atas kenangan manisnya, semoga kita dipertemukan lagi dengan banyak cerita indah di masa depan.

Orang-orang baik yang Allah kirimkan untuk menemani perjuangan saya dalam perkuliahan maupun organisasi yakni seluruh teman-teman angkatan 2018, Kimia B-ismillah sukses, kakak tingkat 2016 - 2017, organik squad, kos cemerlang, dan USA 61, terima kasih untuk setiap do'a baik, pelajaran, nasehat, motivasi dan bantuan tanpa pamrih hingga detik ini yang sangat berharga bagi diri saya pribadi.

Terima kasih telah menjadi salah satu bagian indah dalam kehidupan saya. Semoga kita dapat dipertemukan lagi dengan kisah baru dengan rasa yang sama
Aamiin....

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penyusun panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat dan nikmatnya berupa kesehatan, kesempatan, serta kesabaran, sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Golongan Senyawa Aktif Dan Aktivitas Antioksidan Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit.) Hasil Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi”** dengan semaksimal mungkin.

Sholawat serta salam senantiasa tercurah limpahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita, umatnya dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang melalui cahaya iman dengan pedoman Al-Qur'an dan Al-hadits. Semoga kelak kita termasuk umat yang mendapatkan syafaatnya. Aamiin

Skripsi merupakan salah satu tugas akhir studi yang harus ditempuh sebagai syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penyusun menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bantuan dari pihak-pihak yang terkait. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat taufiq serta hidayah-nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
2. Orang tua tercinta beserta keluarga yang telah memberikan perhatian, nasihat, do'a, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.
3. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

4. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku Ketua Program Studi Kimia sekaligus pembimbing utama yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, dan bantuan dalam penyusunan skripsi.
6. Ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si, selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi.
7. Seluruh dosen Kimia UIN Malana 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. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan kontribusi dan motivasi selama penyusunan skripsi.

Penyusun menyadari banyaknya kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini. Untuk itu, penyusun dengan lapang hati mengaharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga skripsi ini dapat memberikan informasidan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua Aamiin.

Malang, 20 Oktober 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR PERSAMAAN.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Daun Petai Cina	6
2.1.1 Morfologi Serta Klasifikasi Daun Petai Cina	6
2.1.2 Kandungan Kimia Daun Petai Cina	7
2.2 Ekstraksi	7
2.3 Hidrolisis dan Partisi	9
2.4 Uji fitokimia	11
2.4.1 Uji Alkaloid	11
2.4.2 Uji Flavonoid	13
2.4.3 Uji Steroid dan Triterpenoid	14
2.4.4 Uji Saponin	15
2.4.5 Uji Tanin	16
2.5 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLTA).....	18
2.6 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	19
2.7 Identifikasi Menggunakan FTIR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>).....	20
2.8 Antioksidan dan Uji Aktivitasnya Menggunakan Metode DPPH.....	21

BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat	23
3.2.2 Bahan	23
3.3 Rancangan Penelitian	24
3.4 Tahapan Penelitian	24
3.5 Pelaksanaan Penelitian	25
3.5.1 Preparasi Sampel	25
3.5.2 Ekstraksi	25
3.5.2.1 Metode Maserasi.....	25
3.5.2.2 Metode Sonikasi	26
3.5.3 Hidrolisis dan Partisi.....	26
3.5.4 Pengujian Senyawa Aktif Pada Sampel.....	27
3.5.4.1 Uji Alkaloid	27
3.5.4.2 Uji Flavonoid	27
3.5.4.3 Uji Steroid atau Triterpenoid	27
3.5.4.4 Uji Saponin	28
3.5.4.5 Uji Tanin	28
3.5.5 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLTA)	28
3.5.6 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis	28
3.5.7 Identifikasi dengan FTIR	29
3.5.8 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH.....	29
3.5.8.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	29
3.5.8.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel	29
3.5.9 Analisis Data.....	30
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 31
4.1 Preparasi Sampel	31
4.2 Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi	32
4.3 Hidrolisis dan Partisi	34
4.4 Uji Fitokimia	37
4.5 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik.....	39
4.6 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	41
4.7 Identifikasi Menggunakan FTIR	43
4.8 Uji Aktivitas Antioksidan.....	46
4.9 Penelitian Daun Petai Cina dalam Perspektif Islam.....	49
 BAB V PENUTUP.....	 53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran.....	53
 DAFTAR PUSTAKA	 54
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun Petai Cina (<i>Leucaena leucocephala</i> (Lamk.) de Wit.).....	6
Gambar 2.2	Proses Ekstraksi Sonikasi	8
Gambar 2.3	Proses Hidrolisis Glikosida	9
Gambar 2.6	Dugaan Reaksi Pada Uji Alkaloid.....	12
Gambar 2.7	Dugaan Reaksi Pada Uji Flavonoid.....	13
Gambar 2.8	Dugaan Reaksi Pada Uji Steroid dan Triterpenoid.....	15
Gambar 2.9	Dugaan Reaksi Pada Uji Saponin.....	16
Gambar 2.10	Dugaan Reaksi Pada Uji Tanin.....	17
Gambar 2.11	Identifikasi Daun Petai Cina dengan Spektrofotometer UV-Vis	19
Gambar 2.12	Identifikasi Daun Petai Cina dengan FTIR	20
Gambar 2.13	Reaksi DPPH dengan Antioksidan.....	22
Gambar 4.1	Serbuk Daun Petai Cina Hasil Ayakan 90 Mesh	32
Gambar 4.2	Ekstrak Kasar Daun Petai Cina dengan Variasi Metode Ekstraksi	33
Gambar 4.3	Hasil Hidrolisis Ekstrak Kasar Daun Petai Cina	34
Gambar 4.4	Hasil Partisi Ekstrak Kasar Maserasi dan Sonikasi Daun Petai Cina.....	35
Gambar 4.5	Fraksi Etil Asetat Hasil Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi Daun Petai Cina.....	36
Gambar 4.6	Hasil Spektra UV-Vis.....	41
Gambar 4.7	Hasil Spektra FTIR.....	43
Gambar 4.8	Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	46
Gambar 4.9	Larutan Kontrol dan Sampel yang direaksikan dengan DPPH	47

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil Rendemen Ekstrak Daun Petai Cina.....	32
Tabel 4.2	Hasil Rendemen Fraksi Daun Petai Cina	35
Tabel 4.3	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Petai Cina.....	37
Tabel 4.4	Hasil KLTA Daun Petai Cina.....	40
Tabel 4.5	Hasil Spektra UV-Vis	42
Tabel 4.6	Hasil Spektra FTIR.....	44
Tabel 4.7	Hasil Aktivitas Antioksidan	47

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1	Rendemen Ekstrak	26
Persamaan 3.2	Nilai Rf	28
Persamaan 3.3	% Aktivitas Antioksidan.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Rancangan Penelitian	65
Lampiran 2.	Skema Kerja	66
Lampiran 3.	Perhitungan	72
Lampiran 4.	Data Pengamatan dan Perhitungan.....	74
Lampiran 5.	Data Hasil Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	83
Lampiran 6.	Data Hasil Identifikasi Menggunakan FTIR	84
Lampiran 7.	Dokumentasi Penelitian	85
Lampiran 8.	Hasil Uji Taksonomi Tanaman Petai Cina.....	91

ABSTRAK

Salsabila, Tifani T. 2022. **Uji Golongan Senyawa Aktif Dan Aktivitas Antioksidan Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit.) Hasil Ekstraksi Maserasi Dan Sonikasi.**

Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing II: Rif'atul Mahmudah, M.Si

Kata Kunci: Daun petai cina, ekstraksi maserasi, ekstraksi sonikasi, hidrolisis, partisi, fitokimia, UV-Vis, FTIR, DPPH

Daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) merupakan sejenis tanaman perdu dari suku polong-polongan (*Leguminosae*). Daun petai cina berpotensi sebagai antioksidan karena mengandung senyawa aktif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan di dalam daun petai cina.

Daun petai cina diekstraksi dengan metode maserasi dan sonikasi menggunakan pelarut etanol. Kemudian dihidrolisis dengan HCl 2N. Dilanjutkan dengan partisi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak kasar dan fraksi etil asetat diuji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekundernya dan diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode ekstraksi maserasi memiliki rendemen ekstrak kasar dan fraksi etil asetat yang lebih tinggi dari metode sonikasi dengan nilai berturut-turut 14,2%; 13,3%; 66,71%; dan 34,02%. Daun petai cina mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin dari hasil uji fitokimia. Identifikasi menggunakan UV-Vis menunjukkan adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. Identifikasi menggunakan FTIR menunjukkan adanya serapan gugus fungsi $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$, dan $\text{C}-\text{O}$. Daun petai cina pada ekstrak kasar dan fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi memiliki nilai IC_{50} berturut-turut 19,19; 20,37; 17,56; dan 18,10 ppm yang tergolong sebagai antioksidan sangat kuat.

ABSTRACT

Salsabila, Tifani T. 2022. **Active Compound Class Test and Antioxidant Activity of Leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) Leaves Resulting from Maceration and Sonication Extraction.**

Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervisor II: Rif'atul Mahmudah, M.Si

Keywords: Leucaena leaves, maceration extraction, sonication extraction, hydrolysis, partition, phytochemical, UV-Vis, FTIR, DPPH

Leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) is a type of herbaceous plant from the leguminous tribe (*Leguminosae*). Leucaena leaves have potential as antioxidants because they contain active compounds. The purpose of this study was to determine secondary metabolites and antioxidant activity in Leucaena leaves.

Leucaena leaves were extracted by maceration and sonication methods using ethanol as a solvent. Then hydrolyzed with HCl 2N. Followed by partition using ethyl acetate solvent. The crude extract and the ethyl acetate fraction were tested for phytochemicals to determine the content of secondary metabolites and their antioxidant activity was tested using the DPPH method.

The results showed that the maceration extraction method had a higher yield of crude extract and ethyl acetate fraction than the sonication method with values of 14.2%; 13.3%; 66.71%; and 34.02%. Leucaena leaves contain flavonoid, triterpenoid, steroid, and tannin compounds resulting from phytochemical tests. Identification using UV-Vis shows the transition $\pi \rightarrow \pi^*$. Identification using FTIR showed the absorption of functional groups -CH₃, -CH₂, C=C, C=O, and C-O. Leucaena leaves on crude extract and ethyl acetate fraction resulting from maceration and sonication have IC₅₀ values of 19,19; 20,37; 17,56; and 18,10 ppm which are classified as very strong antioxidants.

مستخلص البحث

سلسبيلا، تيفاني تيممة. ٢٠٢٢. اختبار المجموعة المركبة النشطة ونشاط مضادة الأكسدة من ورقة الليوسينا (*Leucaena leucocephala (Lamk.) de Wit*) نتيجة مستخرجة النقع والصوتنة. المشرف الأول: رحماواتي نينغسيه، الماجستير. المشرف الثاني: رفعة المحمودة، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: ورقة الليوسينا، مستخرجة النقع، مستخرجة الصوتنة، التحلل المائي، التقسيم، الكيمياء النباتية، الأشعة فوق البنفسجية، تحويل فوربيه للطيف بالأشعة تحت الحمراء، 2،2-ثنائي فينيل -1-بيكريل هيدرازيل.

ورقة الليوسينا (*Leucaena leucocephala (Lamk.) de Wit*) هي نوع من النباتات الشجرية لقبيلة البقوليات (*Leguminosae*). لديها القدرة على أن تكون مضادة الأكسدة، لأنها تحتوي على مركبات نشطة. كان الهدف من هذا البحث هو تحديد مركبات الأيض الثانوية ونشاط مضادة الأكسدة في ورقة الليوسينا.

تم استخراج ورقة الليوسينا خلال طريقة النقع والصوتنة باستخدام مذيب الإيثانول. ثم تم تحليلها باستخدام كلوريد الهيدروجين (HCl) 2N. ثم التقسيم باستخدام مذيب خلاص الإيثيل. وتن اختبار المستخرجة الخام وجزء خلاص الإيثيل للمواد الكيميائية النباتية لتحديد محتوى مركبات الأيض الثانوية واختبارها بحثا عن نشاط مضادة الأكسدة باستخدام طريقة 2،2-ثنائي فينيل -1-بيكريل هيدرازيل (DPPH).

أظهرت النتائج أن طريقة استخلاص النقع كانت ذات إنتاجية أعلى من المستخلص الخام وكسر أسيتات الإيثيل أعلى من طريقة الصوتنة بـ ١٤,٢٪ ؛ ١٣,٣٪ ؛ ٦٦,٧١٪ ؛ و ٣٤,٠٢٪. ورقة الليوسينا تحتوي على مركب الفلافونويد، ترايتيرينويد، الستيرويد، والتانين من اختبار الكيمياء النباتية. أشار تحديد الهوية باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis) إلى انتقال $\pi \rightarrow \pi^*$. وأشار تحديد الهوية باستخدام تحويل فوربيه للطيف بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) إلى وجود امتصاص المجموعة الوظيفية CH_3 - و CH_2 - و $\text{C}=\text{C}$ و $\text{C}=\text{O}$ و $\text{C}-\text{O}$. ورقة الليوسينا على المستخرجة الخام وجزء خلاص الإيثيل الناتجة عن النقع والصوتنة لها قيمة IC_{50} متتالية تبلغ ١٩,١٩ ؛ ٣٧,٢٠ ؛ و ١٧,٥٦ ؛ و ١٨,١٠ فمفم والتي تصنف على أنها مضادة الأكسدة القوية جدا.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) merupakan sejenis tanaman perdu dari suku polong-polongan (*Leguminosae*). Secara umum daun petai cina dapat digunakan sebagai obat luka dan bengkak (Dalimartha, 2009). Penelitian Eritriana, dkk. (2019) mengungkapkan bahwa daun petai cina dengan dosis 20% efektif mempercepat penyembuhan luka abrasi pada mencit putih jantan. Secara farmakologi daun petai cina telah dilaporkan sebagai antibakteri, antidiabetes, antiinflamasi, antikanker, antihelmintik, dan antioksidan. Berdasarkan skrining fitokomia tanaman ini telah dilaporkan mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid (Rivai, 2021). Allah SWT berfirman dalam surat Asy-Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapa banyakkah Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S Asy-Syu'ara: 7)

Kalimat *أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ* menafsirkan bahwa sebagai manusia kita diperintahkan untuk memikirkan dan mempelajari bumi dengan memperluas pandangan dan pemikirannya. Pada tumbuh-tumbuhan terdapat bukti kebesaran Allah yang hanya akan disadari oleh orang-orang yang berfikir dan beriman (Al-Maraghi, 2000). Kalimat *كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا* menunjukkan bahwa telah banyak tumbuhan yang Allah ciptakan dengan jumlah tak terhingga, dimana tumbuhan tersebut merupakan tumbuhan yang baik ditunjukkan pada kalimat *زَوْجٍ كَرِيمٍ* (Shihab, 2002).

Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup. Pemanfaatan tersebut dapat dilakukan dengan meneliti kandungan suatu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk melindungi tubuh dari penyakit, salah satunya adalah petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.).

Tanaman petai cina berpotensi sebagai antioksidan karena mengandung senyawa aktif yang dapat menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid (Rohmah, dkk., 2012). Aktivitas antioksidan daun petai cina dapat diuji menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Kelebihan metode DPPH adalah sederhana, mudah, dan cepat (Badarinath, dkk., 2010). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maesaroh, dkk. (2018) yang bervariasi metode pengujian antioksidan yakni DPPH, FRAP, dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat, dan kuersetin menyatakan bahwa DPPH merupakan metode yang paling efektif dan efisien diantara 3 metode yang diujikan.

Tahapan penting untuk mendapatkan senyawa antioksidan dari bahan alam adalah tahap ekstraksi. Senyawa aktif dapat terekstrak dengan pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama. Selain jenis pelarut, senyawa aktif juga dapat terekstrak dengan metode ekstraksi yang sesuai (Ibrahim, dkk., 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Audah, dkk. (2018) yang mengekstrak daun mangrove (*Rhizophora Mucronata*) dengan variasi metode didapatkan aktivitas antioksidan pada hasil maserasi lebih tinggi dari hasil sonikasi dengan nilai IC_{50} berturut-turut 51,74 ppm dan 52,86 ppm. Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh Hikmawanti, dkk. (2021) yang mengekstrak daun katuk dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi selama 24 jam menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 90,65 ppm sedangkan, metode sonikasi selama 45 menit menghasilkan aktivitas

antioksidan yang lebih tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 81,43 ppm. Oleh sebab itu diperlukan adanya variasi metode ekstraksi untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan.

Senyawa organik umumnya terdiri dari glikon dan aglikon yang dihubungkan oleh ikatan glikosida. Senyawa metabolit sekunder termasuk dalam senyawa aglikon, oleh sebab itu perlu dilakukan proses pemecahan ikatan glikosida antar metabolit sekunder dengan senyawa lain melalui proses hidrolisis dengan penambahan katalis asam untuk mempercepat reaksi (Fasya, dkk., 2018). Penelitian (Khowas, 2021) menunjukkan bahwa hasil hidrolisis ekstrak etanol daun beluntas menggunakan metode sonikasi memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tanpa hidrolisis, nilai IC_{50} berturut-turut 5,181 ppm dan 18,24 ppm. Selain hidrolisis, proses partisi juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Penelitian Njateng, dkk. (2017) menyatakan bahwa ekstrak kasar kulit batang (*Polyscias fulva*) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari fraksi etil asetatnya dengan nilai IC_{50} berturut-turut 84,86 ppm dan 93,65 ppm. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Hasanah, dkk. (2017) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan daun kopi (*Arabica L.*) pada fraksi etil asetat lebih tinggi dari ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} 28,2 ppm dan 39,7 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa efek sinergis dapat terjadi pada ekstrak kasar juga fraksi, sehingga perlu dilakukan tahap partisi untuk melihat perbedaan hasil antara ekstrak kasar dan fraksi.

Berdasarkan penjelasan diatas, dapat disimpulkan bahwa daun petai cina berpotensi sebagai penghasil antioksidan alami sehingga, perlu adanya pengujian aktivitas antioksidan dan skrining fitokimia. Tahapan penelitian ini meliputi ekstraksi daun petai cina menggunakan metode maserasi dan sonikasi dengan

pelarut etanol, dilanjutkan dengan proses hidrolisis dengan katalis HCl 2N dan partisi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak kasar dan fraksi etil asetat akan diidentifikasi kandungan senyawa aktifnya menggunakan uji fitokimia, spektrofotometer UV-Vis, dan FTIR. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana hasil identifikasi senyawa aktif pada daun petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk. de Wit) hasil ekstraksi maserasi dan sonikasi menggunakan uji fitokimia?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak kasar dan fraksi etil asetat hasil ekstraksi maserasi dan sonikasi daun petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit.) menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa aktif pada daun petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk. de Wit) hasil ekstraksi maserasi dan sonikasi menggunakan uji fitokimia.
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit.) menggunakan metode DPPH hasil ekstraksi maserasi dan sonikasi.

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit.) yang digunakan adalah bagian daun yang diambil dari tangkai kelima, enam, dan tujuh teratas yang diperoleh dari Kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang.
2. Pelarut yang digunakan adalah etanol p.a 96%.
3. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi selama 24 jam dan sonikasi selama 20 menit.
4. Hidrolisis ekstrak etanol menggunakan HCl 2N.
5. Partisi menggunakan pelarut etil asetat.
6. Metode yang digunakan pada uji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH dengan menghitung nilai IC₅₀.
7. Metode yang digunakan pada identifikasi senyawa aktif yang terkandung adalah uji fitokimia.
8. Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.5 Manfaat

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder melalui uji fitokimia, dan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR, serta aktivitas antioksidan daun petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit.) menggunakan metode DPPH.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Petai Cina

2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi

Daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) (Lamk.) de Wit.) memiliki karakteristik majemuk dan berbentuk menyirip rangkap, siripnya berjumlah 3-10 pasang. Anak daun tiap sirip berjumlah 5 - 20 pasang, berhadapan, bentuk garis memanjang dengan ujung runcing dan pangkal miring (tidak sama). permukaannya berambut halus dan tepinya berjumbai (Rivai, 2021).



Gambar 2.1 Daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) (Rivai, 2021)

Klasifikasi tanaman petai cina menurut Cronquist (1981) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: <i>Leucaena</i>
Species	: <i>Leucaena leucocephala</i> (Lamk.) de Wit.

2.1.2 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Daun Petai Cina

Daun petai cina mengandung alkaloid, saponin, lektin, flavonoid, tanin, mimosin, leukanin, protein, kalsium, fosfor, besi, asam lemak, serat, vitamin A dan vitamin B (Abriyani, 2018). Flavonoid merupakan salah satu zat aktif yang paling banyak terkandung dalam daun petai cina yakni sebesar 12,5% (Rohmah, dkk., 2012). Flavonoid berfungsi sebagai penangkap serta penetral radikal bebas atau antioksidan (Dewi, dkk., 2014).

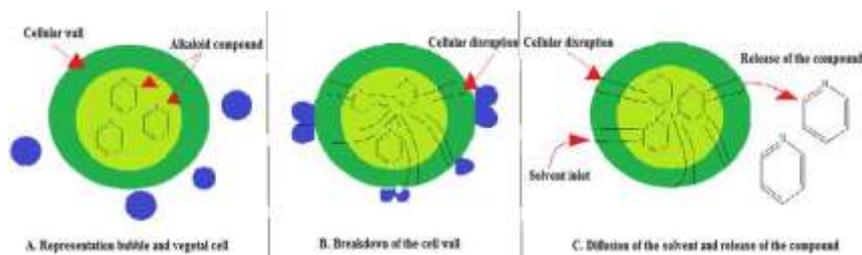
2.2 Ekstraksi

Pada penelitian ini akan dilakukan variasi metode ekstraksi, yaitu metode maserasi dan sonikasi. Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui perbedaan golongan senyawa aktif dan aktivitas antiosidan dari metode ekstraksi yang berbeda pada daun petai cina. Selain itu, pemilihan pelarut dan waktu ekstraksi juga perlu dilakukan agar diperoleh hasil yang maksimal.

Prinsip kerja dari metode maserasi adalah penembusan dinding sel oleh pelarut dimana terjadi proses lisis (pecah). Hal tersebut dipengaruhi adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel sehingga, zat aktif dalam sel akan terekstrak. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Aziz dan Anggarani (2021) diperoleh aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat daun bawang kucai yaitu sebesar 563,1250 ppm, sementara itu pada ekstrak etanol 96% diperoleh sebesar 312,7957 ppm. Hal tersebut menandakan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol lebih tinggi dari ekstrak etil asetat. Narulita (2018) mengekstrak daun mangrove (*Sonneratia caseolaris*) dengan variasi waktu ekstraksi maserasi. Diperoleh nilai IC_{50} dengan waktu 24 jam sebesar

6,345 ppm, 48 jam sebesar 17,404, dan 72 jam sebesar 11,491 ppm. Hasil tersebut menyatakan bahwa variasi waktu 24 jam memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini akan dilakukan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol dengan waktu 24 jam.

Gelombang ultrasonik berasal dari sumber getaran (sonikator) yang akan menyebabkan perambatan gelombang pada perantara (pelarut) dan terjadi tegangan mekanik. Perambatan gelombang tersebut akan mengenai sampel dan menimbulkan efek kavitasi. Efek kavitasi ini merupakan proses pembentukan gelembung-gelembung mikro yang disebabkan peningkatan tekanan pada ekstraksi akibat gelombang ultrasonik. Gelembung kavitasi tersebut akan memecah dinding sel dan pelarut akan berdifusi dalam sel sehingga, senyawa aktif yang terdapat didalam sel akan keluar dan terekstraksi (Torres, dkk., 2017), seperti pada gambar 2.2.



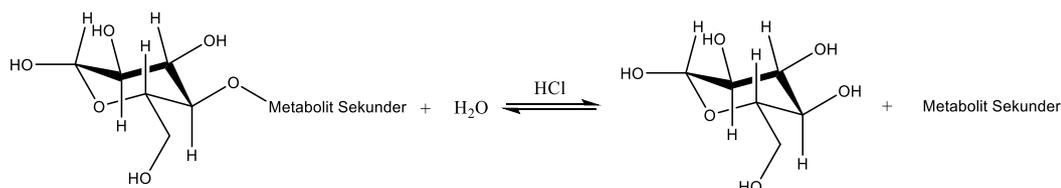
Gambar 2.2 Proses Ekstraksi Sonikasi (Sirshat dkk, 2012)

Penggunaan pelarut merupakan salah satu hal penting dalam ekstraksi bahan alam. Pada penelitian yang dilakukan (Saraswati, dkk., 2021) yang mengekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) menggunakan ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut. Dihasilkan nilai IC_{50} 87,78 ppm pada pelarut etanol, 142,28 ppm pada pelarut aquades, 105,78 ppm pada pelarut metanol, dan 107,41 ppm pada pelarut.

Hal tersebut menandakan bahwa ekstrak dengan pelarut etanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Selain itu, waktu ekstraksi juga perlu dipertimbangkan. Handayani dan Sriherfyna (2016) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi pada hasil ekstraksi sonikasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) selama 20 menit dengan nilai IC_{50} sebesar 15,62 ppm. Sedangkan variasi waktu 10 menit memiliki nilai IC_{50} 18,82 dan variasi waktu 15 menit sebesar 16,72 ppm.

2.3 Hidrolisis dan Partisi

Proses hidrolisis penting dilakukan karena umumnya senyawa metabolit di alam memiliki ikatan glikosida antara metabolit sekunder (aglikon) dengan komponen gula (glikon) yang saling berikatan (Mardiyah, dkk., 2014). Proses hidrolisis dapat dilakukan dengan penambahan asam kuat, dimana suatu asam dikatakan kuat karena dapat dengan mudah melepaskan proton H^+ . Semakin banyak proton H^+ yang terlepas maka ikatan glikosida akan semakin mudah terputus (Handoko, 2006). Penambahan asam kuat akan menyebabkan suasana asam, sehingga perlu dinetralkan. Penetralkan tersebut dapat dilakukan dengan penambahan suatu basa seperti $NaHCO_3$ 5%. Selain itu, penetralan berfungsi untuk menghentikan reaksi hidrolisis agar glikon dan aglikon tidak berikatan kembali, karena reaksi tersebut bersifat *reversible* (Fasya, dkk., 2018)



Gambar 2.3 Reaksi Hidrolisis Glikosida (Mardiyah dkk., 2014)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Auliawan dan Cahyono (2014) yang mengekstrak daun iler (*Coleus scutellarioides*). Diperoleh hasil ekstrak yang telah dihidrolisis dengan nilai IC_{50} 724,32 ppm dan tanpa dihidrolisis dengan nilai IC_{50} 735,67 ppm. Hal tersebut menandakan bahwa ekstrak yang telah dihidrolisis memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dari ekstrak yang belum dihidrolisis.

Faktor yang berpengaruh terhadap hasil hidrolisis adalah katalis dan konsentrasi katalis. Artati, dkk. (2012) bervariasi katalis HCl dan H_2SO_4 , serta konsentrasi katalis 1 N, 1,5 N, 2 N, 2,5 N, dan 3 N untuk mengetahui berat glukosa yang dihasilkan. Dari variasi konsentrasi tersebut, didapatkan hasil bahwa konsentrasi 2 N memiliki hasil terbaik. Katalis H_2SO_4 dengan konsentrasi 2N menghasilkan berat glukosa sebanyak 8,2 g, sedangkan katalis HCl dengan konsentrasi 2N mendapatkan hasil berat glukosa sebesar 9 g. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa penggunaan HCl 2N merupakan katalis asam yang paling efektif. Oleh sebab itu, penelitian ini digunakan HCl 2N untuk mengoptimalkan proses hidrolisis.

Hasil hidrolisis kemudian dipartisi untuk memisahkan golongan kandungan senyawa yang satu dengan golongan yang lainnya dari suatu. Prinsip partisi adalah pemisahan kimia berdasarkan perbedaan distribusi diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur dengan tingkat kepolaran yang berbeda ekstrak (Khopkar, 2007). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sannigrahi, dkk. (2010) mengenai potensi antioksidan *Enhydra fluctuans Lour* didapatkan hasil bahwa aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat lebih tinggi dari ekstrak kasar, dengan nilai IC_{50} berturut-turut 23,4 $\mu g/mL$ dan 66,5 $\mu g/mL$. Nilai IC_{50} yang rendah pada fraksi etil asetat disebabkan oleh kandungan polifenol dan flavonoid yang tinggi,

hal tersebut dimungkinkan adanya tahap pemurnian. Kandungan senyawa aktif terbesar pada daun petai cina adalah tanin dengan presentase 13,34% dan flavonoid 12,5% (Rohmah, dkk., 2012). Tanin dan flavonoid bersifat polar, namun beberapa turunan flavonoid bersifat semi-polar. Oleh sebab itu diperlukan pelarut yang bersifat semi-polar agar kedua senyawa tersebut dapat terekstrak. Pelarut yang dapat digunakan adalah etil asetat (Putri, dkk., 2013).

2.4 Uji Fitokimia

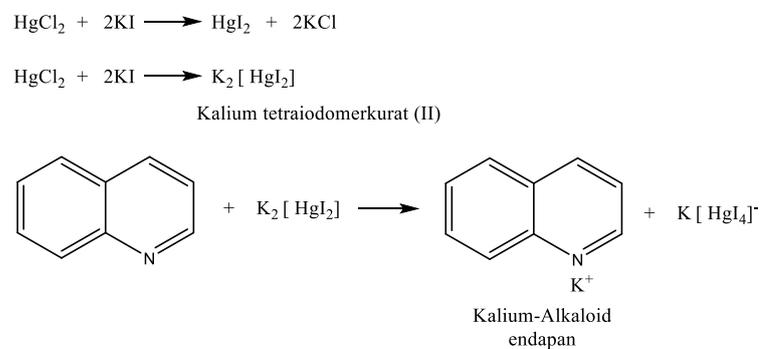
Uji fitokimia merupakan suatu uji kualitatif yang dilakukan untuk mendeteksi komponen bioaktif yang terkandung dalam metabolit sekunder. Selain itu, uji fitokimia juga dapat mendeteksi komponen bioaktif pada metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional (Kannan dan Satyamoorthy, 2009).

2.4.1 Uji Alkaloid

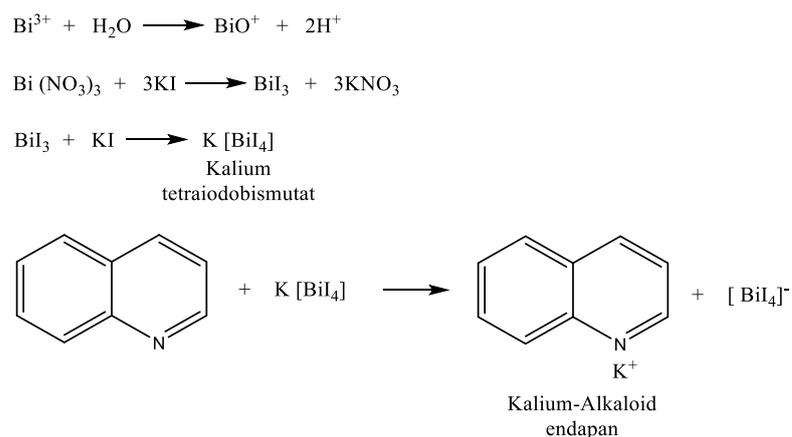
Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan. Alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, isokuinolina, dan tropana (Robinson, 1995).

Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) dan pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Prinsip dari metode analisis ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian

ligan. Hasil positif alkaloid adalah terbentuknya endapan jingga pada penambahan pereaksi Dragendorff karena nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan K^+ yang merupakan ion logam. Seperti pada gambar 2.4. Sedangkan pada penambahan reagen Mayer akan terbentuk endapan putih kekuningan karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Sangi, dkk., 2008). Reaksi pada alkaloid seperti pada gambar 2.5.



Gambar 2.4 Reaksi Pada Uji Alkaloid dengan Reagen Mayer (Marliana dkk., 2005)

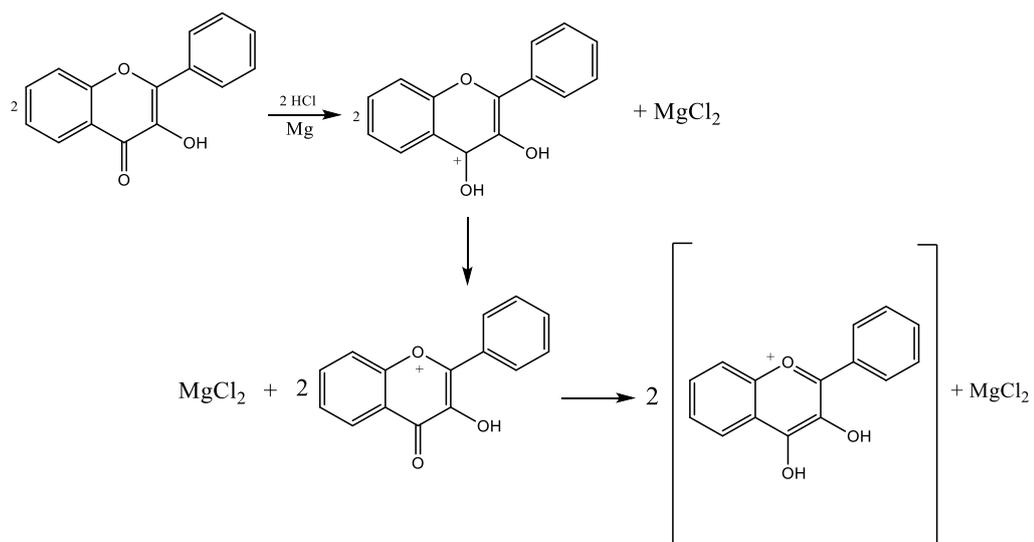


Gambar 2.5 Reaksi Pada Uji Alkaloid dengan Reagen Dragendorff Andhariyani dkk., 2018)

Rahayu., dkk (2015) mengidentifikasi adanya alkaloid dalam ekstrak etanol daun petai cina. Hal tersebut ditandai pada saat pengujian menggunakan reagen Dragendorff terdapat endapan merah dan pada pereaksi Mayer terdapat endapan putih yang menandakan senyawa murni yang diperoleh.

2.4.2 Uji Flavonoid

Aktivitas sebagai antioksidan dimiliki oleh sebagian besar flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya. Ketika flavonoid bereaksi dengan radikal bebas akan membentuk radikal baru yang distabilisasi oleh efek resonansi inti aromatik (Cuvelier, dkk., 1994). Pengujian flavonoid dapat dilakukan dengan penambahan logam magnesium dan HCl pekat yang bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron sehingga, terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Robinson, 1995). Reaksi pada flavonoid seperti pada gambar 2.6.



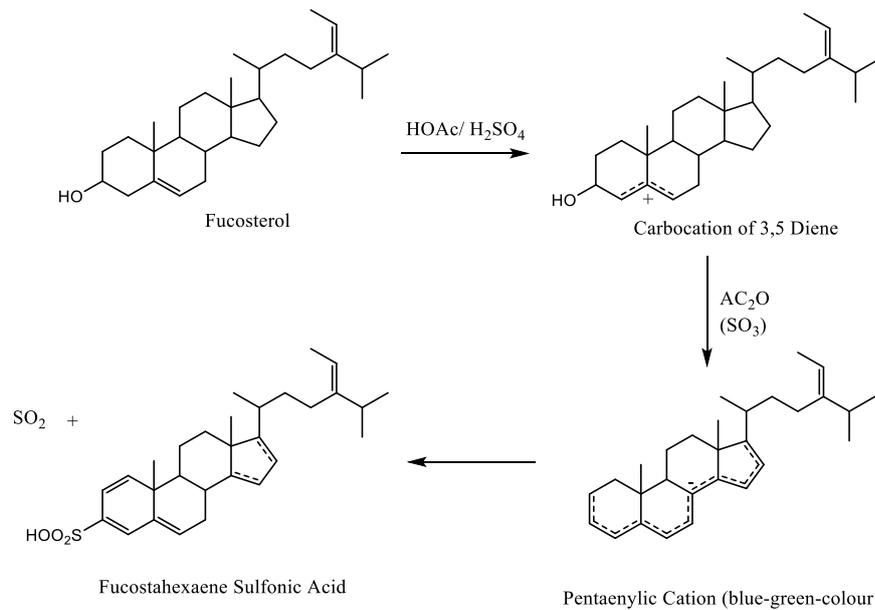
Gambar 2.6 Reaksi Pada Uji Flavonoid (Septyaningsih, 2010)

Rahayu, dkk. (2015) mengekstrak daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Hasil pengujian flavonoid menggunakan serbuk Mg dan HCl menunjukkan ekstrak daun petai cina positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna larutan dari hijau menjadi merah.

2.4.3 Uji Steroid dan Triterpenoid

Senyawa steroid dapat diklasifikasikan menjadi steroid sederhana jika tersusun dari kurang dari 21 atom karbon dan steroid dengan atom karbon lebih dari 21 seperti sterol, sapogenin, alkaloid steroid, glikosida jantung dan vitamin D (Hogiono, 1994). Sedangkan triterpenoid sendiri merupakan komponen tumbuhan yang memiliki aroma dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid adalah senyawa yang tersusun dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987)

Pengujian steroid dan triterpenoid dilakukan dengan penambahan reagen Liebermann-Burchard (campuran antara asam asetat anhidrat, kloroform, dan H₂SO₄ pekat). Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa terpenoid dan steroid membentuk warna oleh H₂SO₄ pekat. Hasil positif triterpenoid adalah terbentuknya cincin kecoklatan dan biru untuk analisis steroid (Sangi, dkk., 2008). Reaksi pada steroid dan triterpenoid seperti pada gambar 2.7.



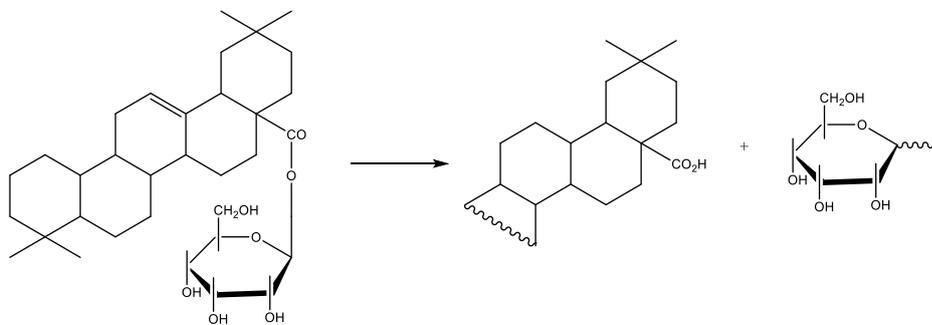
Gambar 2.7 Reaksi Pada Uji Steroid dan Triterpenoid (senyawa fukosterol) (Burke, dkk., 1974)

Sartinah, dkk. (2013) mengekstraksi daun petai cina menggunakan metode soxhletasi dengan pelarut washbenzene dan metanol selama 24 jam. Dilanjutkan dengan fraksinasi dan identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis. Berdasarkan ilusidasi struktur menggunakan UV-Vis, FTIR, ¹H-NMR, dan GCMS didapatkan hasil bahwa daun petai cina mengandaung senyawa lupeol. Senyawa lupeol merupakan golongan senyawa triterpenoid (Muharni, 2010).

2.4.4 Uji Saponin

Saponin pada umumnya berbentuk glikosida sehingga bersifat polar dan merupakan senyawa aktif yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Busa yang terbentuk berasal dari misel yang memiliki gugus polar yang menghadap ke dalam dan non polar yang menghadap keluar. Keadaan inilah yang tampak seperti busa (Padmasari, dkk., 2013).

Analisis kandungan saponin dalam sampel dapat dilakukan dengan uji Forth yaitu dengan cara menambahkan 10 mL akuades pada sampel ke dalam tabung reaksi dan dikocok, jika terbentuk busa tetap (tidak hilang selama 30 detik), maka terdapat adanya kandungan saponin dalam sampel. Pembentukan busa tersebut disebabkan oleh adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Rusdi, 1990). Reaksi pada saponin seperti pada gambar 2.7.



Gambar 2.7 Reaksi Pada Uji Saponin (Illing dkk., 2017)

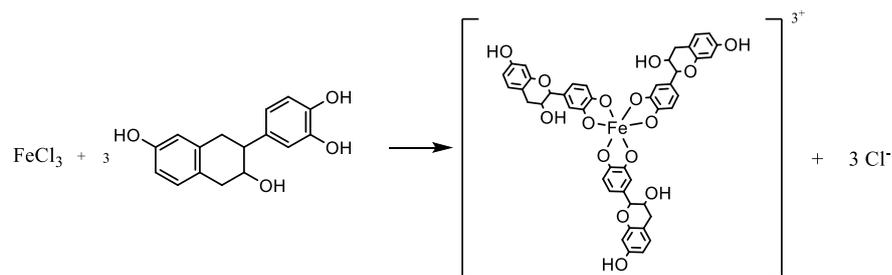
Pertiwi, dkk. (2014) mengisolasi saponin dari daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit.) menggunakan pelarut n-hexana dengan metode soxhletasi selama 24 jam, dilanjutkan dengan fraksinasi dan diidentifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian menyebutkan bahwa isolat saponin daun petai cina sebesar 16,50 g atau 6,74%.

2.4.5 Uji Tanin

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berambut, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan

protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Tanin termasuk golongan fenolik yang mengandung kerangka cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil (-OH) (Mustikasari dan Ariyani, 2008).

Pengujian tanin dapat dilakukan dengan pemanasan sampel dan ditetaskan larutan FeCl_3 1%. Penambahan larutan FeCl_3 1% sendiri bertujuan untuk mendeteksi adanya gugus fenol dalam sampel. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua. Ergina., dkk. (2014) mengekstrak daun palado dengan pelarut etanol dan didapatkan hasil terbentuknya warna larutan hijau kebiruan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Oleh sebab itu, apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Harborne, 1987). Reaksi pada tanin seperti pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Dugaan Reaksi Pada Uji Tanin (Datu dkk., 2021)

Berdasarkan penelitian Rahayu., dkk. (2021) yang mengekstrak daun petai cina dengan etanol 96% menggunakan metode maserasi. Diperoleh kandungan tanin pada ekstrak kasar daun petai cina. Hal tersebut ditandai dengan perubahan

warna sebelum ditetesi besi (III) dari kuning menjadi hitam keunguan. Penambahan ekstrak dengan FeCl_3 1% dalam air menimbulkan warna hijau atau hitam yang kuat.

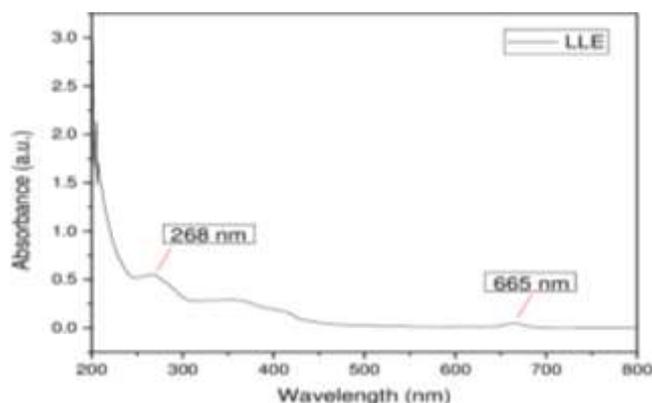
2.5 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

KLTA digunakan untuk melakukan penegasan hasil skrining fitokimia dan memastikan kandungan senyawa pada suatu sampel. Selain itu, dapat berfungsi sebagai tahap penentuan eluen terbaik yang akan digunakan untuk pemisahan lebih lanjut (Forestryana dan Arnida, 2020). Eluen terbaik dapat memisahkan senyawa dengan parameter banyaknya noda yang terpisah, berbentuk bulat dan tidak berekor, serta jarak antara noda jelas. Noda tersebut dapat terpisah berdasarkan tingkat kepolaran (Harborne, 1987). Pemisahan pada KLT terjadi karena kemampuan fase diam dan fase gerak untuk mengikat komponen yang disebabkan oleh perbedaan tingkat kepolaran. Komponen yang memiliki polaritas yang sama dengan fase diam (polar) akan berinteraksi lebih kuat yang mengakibatkan tertahannya komponen oleh fase diam. Sedangkan komponen yang memiliki polaritas yang sama dengan fasa gerak (non polar) akan terelusi oleh fasa gerak.

Data yang diperoleh berupa nilai R_f dan warna noda pada kromatogram sebagai hasil elusi pada lempeng KLT. Data tersebut dapat memberikan informasi mengenai identitas dugaan senyawa pada sampel. Nilai R_f yang diperoleh menunjukkan perbedaan sifat senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Senyawa yang mempunyai R_f lebih besar menunjukkan tingkat kepolaran yang rendah dan sebaliknya. Senyawa yang lebih polar akan tertahan pada fasa diam sehingga, menghasilkan nilai R_f yang rendah. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.6 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu jenis instrumen yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190 - 380 nm) dan sinar tampak (380 - 780 nm). Spektrofotometer UV-vis dapat memberikan informasi mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel melalui spektrum yang terbentuk. Spektrum khas Flavonoid terdiri dari dua spektrum, rentang 240 – 285 nm pada pita II dan 300 – 550 nm pada pita I (Markham, 1988), alkaloid pada rentang 270-285 nm (Pramita, dkk., 2013), spektrum steroid atau triterpenoid pada panjang gelombang 202 nm (Jayanti, dkk., 2019), dan saponin pada rentang panjang gelombang 210-215 nm (Tsani, 2020).

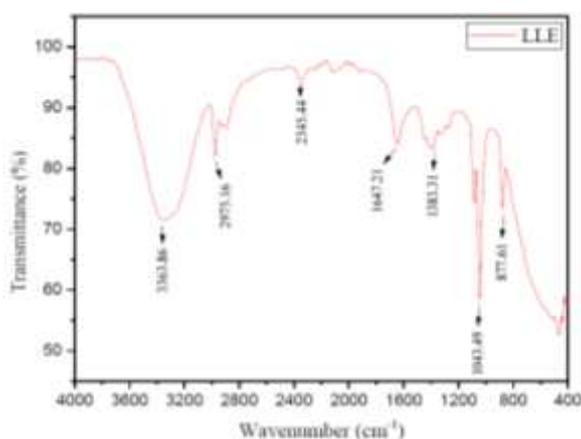


Gambar 2.9 Identifikasi daun petai cina menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Ikhmal, dkk., 2019)

Berdasarkan gambar 2.4 menunjukkan adanya panjang gelombang maksimum pada 268 nm yang menandakan kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun petai cina (Ikhmal, dkk., 2019). Serapan pada daerah tersebut merupakan kromofor yang memberikan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (Suhendi, dkk., 2011). Terdapat serapan pada 665 nm yang merupakan panjang gelombang dari pigmen klorofil (Sastrohamidjojo, 1991).

2.7 Identifikasi Menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

FTIR merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk karakterisasi polimer dan gugus fungsi dengan cara menentukan dan merekam hasil spektra residu dengan serapan energi oleh molekul organik dalam sinar infra merah. Prinsip metode ini didasarkan pada interaksi antara radiasi infra merah dengan materi (interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik). Interaksi ini berupa absorbansi pada frekuensi atau panjang gelombang tertentu yang berhubungan dengan energi transisi antara berbagai keadaan energi vibrasi, rotasi, dan molekul. Radiasi infra merah yang penting dalam penentuan struktur atau analisis gugus fungsi terletak pada $650\text{ cm}^{-1} - 4000\text{ cm}^{-1}$ (Rahmatullah dan Putro, 2016).



Gambar 2.10 Identifikasi daun petai cina dengan FTIR (Ikhmal dkk., 2019)

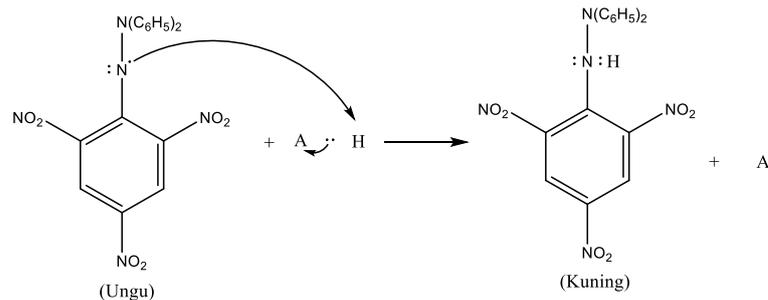
Berdasarkan gambar 2.5 menunjukkan adanya serapan kuat dan lebar pada $3368,86\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan adanya gugus (-OH) golongan alkohol dan serapan kuat pada $2975,16\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan gugus (-OH) golongan asam karboksilat. Terdapat serapan kuat pada $1647,21\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan C=C stretching dan serapan medium pada $1383,31\text{ cm}^{-1}$ dan $1043,49\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan C-H bending dan C-N stretching (Ikhmal, dkk., 2019).

Sartinah, dkk. (2013) mengungkapkan bahwa spektra IR hasil isolasi daun petai cina menunjukkan serapan kuat (*strong*) pada $3409,4\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan pita uluran OH mengindikasikan adanya gugus (-OH) dan diperkuat dengan adanya pita serapan sedang (*moderat*) pada $1082,3\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan ikatan C-O dan serapan yang lemah (*weak*) pada $1285,3\text{ cm}^{-1}$. Vibrasi C-H luar bidang tak jenuh ditunjukkan pada 904 cm^{-1} , sedangkan serapan pada 1575 cm^{-1} merupakan vibrasi ikatan rangkap C=C tak terkonjugasi. Vibrasi *stretching* dan *bending* dari metil (CH_3) ditunjukkan pada $2928,2$. Serapan pada $2854,3\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya CH bending yang merupakan hidrokarbon alifatik siklik (lingkar) dan dipertegas adanya serapan pada daerah $1416,4\text{ cm}^{-1}$ untuk metilen dan $1385,0\text{ cm}^{-1}$ untuk metil.

2.8 Antioksidan dan Uji Aktivitasnya Menggunakan Metode DPPH

Secara umum antioksidan digolongkan menjadi dua jenis, berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan sintetik (hasil sintesis) dan antioksidan alami (hasil ekstraksi bahan alam). Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung persenyawaan yang mampu menangkal radikal bebas (Rohmah, dkk., 2012). Daun petai cina memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Abriyani, 2018).

Senyawa DPPH adalah radikal yang distabilkan oleh delokalisasi elektron bebas secara menyeluruh dan menyebabkan DPPH tidak mudah membentuk dimer (Kwon dan Kim, 2003). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, dan memerlukan sedikit sampel. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti, dkk., 2009).



Gambar 2.11 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Pasaribu dan Setyawati, 2011)

Larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan antioksidan melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga, DPPH akan berubah menjadi DPPH tereduksi yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah DPPH tereduksi tersebut akan ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi merah muda atau kuning pucat. Analisis tersebut dapat diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm sehingga, aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).

Parameter yang dapat digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan adalah IC_{50} (*inhibition concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} bernilai kurang dari 50 ppm, kuat jika bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika bernilai lebih dari 150 ppm (Mardawati dkk., 2008). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fahrurrozi (2021) menyebutkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun petai cina menggunakan metode DPPH diperoleh nilai IC_{50} sebesar 86,25 ppm. Oleh sebab itu, daun petai cina dapat dikategorikan sebagai sumber antioksidan yang kuat.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli - September 2022 di Laboratorium Kimia Organik Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, tabung reaksi, gelas kimia, erlenmeyer, corong pisah, labu ukur, batang pengaduk, neraca analitik, spatula, *shaker*, sonikator, corong Buchner, kertas saring, *rotary evaporator*, botol asi, *magnetic stirrer*, penangas air, plat KLT G₆₀F₂₅₄, pipa kapiler, botol vial, vortex, inkubator, spektrofotometer UV-Vis (varian carry 50), dan FTIR (Merk varian 1000 FTIR Scimitar Series).

3.2.2 Bahan

Bahan yang akan diuji pada penelitian ini yaitu daun petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit) dan pelarut etanol p.a. 96%. Bahan lainnya yaitu aquades, Na₂CO₃, HCl 2 N untuk hidrolisis, etil asetat untuk partisi, reagen Dragendorff, reagen Mayer, HCl 37 %, serbuk magnesium, asam asetat anhidrat H₂SO₄ pekat, dan FeCl₃ 1% untuk uji fitokimia. n-heksana, etil asetat, n-butanol, asam asetat, akuades, kloroform, metanol untuk KLTA. Serta DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan etanol untuk uji aktivitas antioksidan.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia dan aktivitas antioksidan sampel daun petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) de Wit.) yang diperoleh dari wilayah Kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang. Tahap pertama yaitu pengambilan sampel daun. Kemudian sampel disortasi basah dan dicuci, kemudian dilakukan pengeringan sampel dengan oven pada suhu 50°C selama ± 6 jam, dilanjutkan proses sortasi kering. Kemudian sampel kering dihaluskan di UPT Materia Medica Batu. Simplisia yang diperoleh diekstraksi dengan metode maserasi dan sonikasi menggunakan pelarut etanol p.a. 96%. Hasil ekstraksi akan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak pekat masing-masing sampel, setelah itu dilakukan hidrolisis.

Hasil hidrolisis dilanjutkan dengan proses partisi dengan penambahan pelarut etil asetat. Ekstrak kasar dan fraksi etil asetat diuji fitokimia, KLTA, karakterisasi, dan aktivitas antioksidannya. Uji fitokimia terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, dan tanin. KLTA dilakukan dengan variasi eluen. Kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm dan FTIR pada bilangan gelombang 4000 – 450 cm^{-1} .

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel daun petai cina
2. Ekstraksi sampel dengan variasi metode yaitu maserasi dan sonikasi menggunakan pelarut etanol p.a. 96%

3. Hidrolisis dan Partisi
4. Uji fitokimia daun petai cina
5. Identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA)
6. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis
7. Identifikasi dengan FTIR
8. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH
9. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel (Rianti, dkk., 2018)

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun petai cina. Bagian daun dari tangkai kelima, enam, dan tujuh teratas dipetik, selanjutnya disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Sampel dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C selama ± 6 jam, dilanjutkan dengan sortasi kering. Kemudian dilakukan preparasi sampel kering di UPT. *Materia Medica Batu*.

3.5.2 Ekstraksi

3.5.2.1 Metode Maserasi (Lathifah, 2018)

Sebanyak 30 g serbuk daun kering dimasukkan kedalam erlenmeyer, dan ditambahkan 300 mL pelarut etanol 96%. Kemudian ditutup dengan aluminium foil. Sampel diaduk dengan shaker dengan kecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*) dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Larutan ekstrak disaring menggunakan corong *Buchner*. Selanjutnya filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* dengan tekanan 100 mbar, temperatur 45°C, dan putaran 600 rpm. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.1.

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

3.5.2.2 Metode Sonikasi (Hendryani, dkk., 2015)

Sebanyak 30 g serbuk daun kering dimasukkan kedalam erlenmeyer, ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 300 mL. Kemudian ditutup dengan alumunium foil dan diekstraksi menggunakan sonikator masing-masing dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit pada suhu 45°C. Kemudian disaring hasil ekstraksi ultrasonik menggunakan corong *Buchner*. Filtrat yang di dapat adalah ekstrak kasar daun petai cina. Selanjutnya, filtrat dievaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* dengan tekanan 100 mbar, temperatur 40°C dan putaran 100 rpm. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung randemennya dengan persamaan 3.1.

3.5.3 Hidrolisis dan Partisi (Fasya, dkk., 2018)

Sebanyak 2 g ekstrak pekat etanol daun petai cina dimasukkan ke dalam beaker glass. Kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 4 mL asam klorida (HCl) 2 N ke dalam ekstrak pekat. Hidrolisis dilakukan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang dan ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO₃) 5% hingga pH netral. Hidrolisat yang diperoleh dipartisi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:5 (sampel: etil asetat), kemudian dikocok selama 15 menit dan didiamkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu fasa organik (atas) dan fasa air (bawah). Dipisahkan masing-masing lapisan yang terbentuk. Dimasukkan kembali fasa air ke dalam beaker glass dan ditambahkan etil asetat 5

mL. Proses partisi dilakukan sebanyak 3 kali. Lapisan organik diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Fraksi yang sudah pekat dihitung dan ditimbang rendemennya menggunakan persamaan 3.1

3.5.4 Pengujian senyawa aktif pada sampel

3.5.4.1 Uji Alkaloid (Rahayu, dkk., 2015)

Sedikit sampel dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi lalu dilarutkan dengan etanol. Ditambahkan HCl 2%. Tabung reaksi 1 ditambahkan 2 tetes reagen Dragendorff. Tabung reaksi 2 ditambahkan 2 tetes reagen Mayer. Jika dengan reagen Dragendorff terjadi endapan coklat maka sampel tersebut mengandung alkaloid. Jika dengan reagen Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol maka ada kemungkinan terdapat alkaloid.

3.5.4.2 Uji Flavonoid (Rahayu, dkk., 2015)

Sedikit sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam etanol. Kemudian ditambahkan 1-3 mL metanol panas 50%, 500 mg serbuk magnesium, dan 2-4 tetes HCl pekat. Kemudian campuran dikocok. Terbentuknya warna hijau, kuning, atau jingga menunjukkan adanya kandungan flavonoid.

3.5.4.3 Uji Steroid dan Triterpenoid (Rahayu, dkk., 2015)

Sedikit sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam etanol. Kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL kloroform, 0,5 mL asam asetat anhidrat, dan 1-2 mL asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan senyawa steroid dan terbentuknya warna merah atau ungu menunjukkan senyawa triterpenoid.

3.5.4.4 Uji Saponin (Rahayu, dkk., 2015)

Sedikit sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam etanol. Kemudian ditambahkan 2 mL air. Kemudian larutan dikocok kuat selama 1 menit, jika terbentuk buih tambahkan HCl 1N, kemudian diamkan selama 10 menit. Jika terdapat busa yang stabil menunjukkan adanya kandungan saponin.

3.5.4.5 Uji Tanin (Marlinda, dkk., 2012)

Sedikit sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam etanol. Kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Jika terbentuk warna cokelat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin.

3.5.5 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) (Forestryana dan Arnida, 2020).

Sampel ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng KLT dengan pipa kapiler, kemudian dielusi dengan fase gerak berupa: n-heksan:

1. etil asetat dibuat dalam perbandingan 8:2; 7:3; dan 6:4
2. n-Butanol: asam asetat: aquades (BAA) perbandingan 4:1:5
3. Kloroform: metanol dalam perbandingan (9: 1).

Noda yang terbentuk diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm. Dilihat warna noda dan dihitung nilai Rf dengan persamaan 3.2.

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh fasa gerak}} \dots\dots\dots (3.2)$$

3.5.6 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis (Maharani, dkk., 2016)

Sampel dilarutkan pada etanol dengan konsentrasi 50 ppm sebanyak 5 mL. Selanjutnya dimasukkan kedalam kuvet dan diukur panjang gelombang

maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm.

3.5.7 Identifikasi dengan FTIR (Ikhmal, dkk., 2019)

Sampel dicampurkan dengan KBr. Selanjutnya campuran dihomogenkan pada mortar agat dan dibuat pelet. Pelet yang dibuat yang diidentifikasi gugus senyawanya dengan spektrofotometer FTIR pada bilangan gelombang 4000 - 450 cm^{-1} .

3.5.8 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH

3.5.8.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Rahayu, dkk., 2015)

Larutan DPPH 0,2 mM dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi tutup dan ditambahkan pelarut etanol sebanyak 3 mL. Larutan divortex selama 2 menit dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C, kemudian dicari λ_{maks} larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dicatat λ_{maks} hasil pengukuran. Larutan tersebut juga berfungsi sebagai control.

3.5.8.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel (Rahayu, dkk., 2015)

Pengukuran aktivitas antioksidan diawali dengan membuat absorbansi kontrol dari larutan yang telah dibuat. Larutan yang diperoleh dimasukkan dalam kuvet. Kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diperoleh pada tahap sebelumnya.

Sampel dilarutkan dalam etanol 96% dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm pada botol vial, kemudian divortex selama 1 menit. Dipipet masing-masing ekstrak sebanyak 3 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi tutup, setelah itu

ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Perbandingan larutan DPPH 0,2 mM dan ekstrak yang dilarutkan adalah 1:3. Setelah itu divortex selama 2 menit dan diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 30 menit. Kemampuan untuk meredam radikal bebas DPPH dihitung dengan menggunakan persamaan 3.3.

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \dots\dots\dots(3.3)$$

Keterangan A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan sampel

Selanjutnya masing-masing sampel dihitung nilai IC_{50} menggunakan data yang diperoleh pada program “*Microsoft Excel*”.

3.5.9 Analisis Data (Rahmayani, dkk., 2013)

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menghitung % inhibisi. Nilai konsentrasi sampel ekstrak dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y sehingga diperoleh persamaan regresi linear, dari persamaan tersebut dapat digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing-masing sampel. Pada analisis statistik dilakukan uji varian *Two Way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi dan tingkat kemurnian sampel terhadap aktivitas antioksidannya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel bertujuan untuk meminimalkan adanya kontaminan dan mencapai kondisi standar layak uji sehingga, hasil analisa akurat dan presisi. Daun diambil pada bagian 4 tangkai dari pucuk dan 3 tangkai dari pangkal dengan asumsi bahwa kandungan zat aktif pada daun dalam keadaan maksimal. Daun yang dipilih berasal dari tangkai yang sehat, utuh (tidak berlubang karena dimakan hama), dan berwarna hijau. Sebelum dilakukan analisis, sampel diuji taksonomi terlebih dahulu yang bertujuan untuk mengetahui identitas tanaman yang akan di uji (Mugitasari dan Rahmawati, 2020). Berdasarkan hasil uji taksonomi yang dilakukan di UPT. Materia Medica Batu menyatakan bahwa sampel memiliki nama latin (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit).

Preparasi sampel daun petai cina pada penelitian ini diawali dengan sortasi kering yang bertujuan untuk memperoleh daun yang layak seperti berwarna hijau tua dan tidak termakan oleh serangga, dilanjutkan dengan pencucian yang berfungsi untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada daun. Tahap berikutnya dilakukan pengeringan untuk mengurangi kadar air pada sampel, menghentikan reaksi enzimatik, dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme sehingga, tahan lama pada proses penyimpanan, dilanjutkan proses penghalusan sampel yang bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga, kontak antara sampel dengan pelarut pada saat ekstraksi berjalan secara maksimal dan membantu proses pemecahan dinding sel agar menghasilkan jumlah ekstrak yang cukup besar. Hasil

pengeringan 1,03 kg sampel basah menghasilkan 360 g serbuk daun petai cina berwarna hijau. Tahapan terakhir yakni uji kadar air menggunakan *moisture analyzer* dan diperoleh kadar air sebesar 7,6%.

4.2 Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi

Ekstraksi dilakukan untuk memisahkan kandungan metabolit sekunder dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai. Pada penelitian ini dilakukan variasi metode ekstraksi yakni maserasi dan sonikasi. Ekstrak kasar hasil maserasi dan sonikasi menghasilkan ekstrak berwarna hijau tua. Warna hijau yang terdapat dalam daun petai cina berasal dari pigmen klorofil yang terkandung didalamnya. Klorofil adalah pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas pada jaringan parenkim palisade dan parenkim spons daun. Pada tumbuhan tingkat tinggi, klorofil a dan klorofil b merupakan pigmen utama fotosintetik, yang berperan menyerap cahaya violet, biru, merah dan memantulkan cahaya hijau (Sumenda, 2011). Ekstrak yang dihasilkan memiliki tekstur kental dan lengket, serta beraroma khas daun petai cina.

Pada tahap ini dilakukan perhitungan rendemen sampel yang bertujuan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Ekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan rendemen lebih tinggi dari metode sonikasi yakni 14,2%. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi. Semakin lama sampel dengan pelarut bereaksi maka proses penetrasi pelarut kedalam sel semakin baik dan menyebabkan banyak senyawa berdifusi keluar sel (terekstrak), hal tersebut berpengaruh terhadap tingginya rendemen yang diperoleh (Yulianti, dkk., 2014). (Utami, dkk., 2020) mengekstrak daun iler menggunakan pelarut etanol

dengan variasi metode ekstraksi. Diperoleh rendemen ekstrak dengan metode maserasi lebih tinggi dari rendemen ekstrak dengan metode sonikasi dengan nilai rendemen berturut-turut adalah 27,5107% dan 24,2616%.

4.3 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis merupakan suatu proses yang dilakukan untuk memutus ikatan glikosida. Pada penelitian ini dilakukan dengan penambahan katalis HCl 2N yang memberikan suasana asam. Kemudian ditambahkan NaHCO_3 5% untuk menghentikan reaksi hidrolisis yang ditandai adanya suasana netral (pH 7) dan terbentuknya gelembung-gelembung CO_2 .

Hidrolisat yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan partisi guna untuk melarutkan senyawa aktif yang lebih spesifik sesuai dengan pelarutnya (Fasya, dkk., 2018). Pada penelitian ini digunakan etil asetat sebagai pelarut partisi. Alasan pemilihan etil asetat karena daun petai cina paling banyak mengandung senyawa tanin sebanyak 13,34% dan flavonoid sebanyak 12,5% yang memiliki sifat kepolaran yang tinggi (Rohmah, dkk., 2016). Etil asetat yang bersifat semi polar diharapkan dapat menarik kedua senyawa tersebut.

Hasil partisi akan membentuk dua lapisan yang tidak bercampur. Pembentukan lapisan tersebut diakibatkan oleh adanya perbedaan berat jenis masing-masing pelarut. Etil asetat memiliki berat jenis sebesar 0,902 g/mL dan air sebesar 1 g/mL (Mulyono, 2006). Dua lapisan tersebut merupakan fasa organik (lapisan atas) dan fasa air (lapisan bawah) yang masing-masing akan mengekstrak senyawa yang berbeda. Aglikon (metabolit sekunder) akan terekstrak ke fasa organik dan glikon (gula) akan terekstrak ke fasa air (Fasya, dkk., 2018).

Proses partisi menghasilkan fraksi berwarna coklat kehitaman. Klorofil yang sebelumnya terdapat pada ekstrak kasar dimungkinkan telah terdegradasi oleh adanya penambahan asam saat proses hidrolisis. Menurut Indrasti., dkk. (2019) asam menyebabkan perubahan pada struktur klorofil karena kehilangan atom Mg dan membentuk senyawa turunan feofitin yang tidak lagi berwarna hijau.

Rendemen fraksi etil asetat hasil maserasi lebih tinggi dari hasil sonikasi, dalam artian metode maserasi lebih banyak mengekstrak senyawa metabolit sekunder. Sebagaimana yang dilaporkan (Harborne, 1987) bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan. Ketika dilakukan tahap pemisahan, senyawa tersebut terekstrak pada fasa organik sehingga dapat menghasilkan rendemen yang lebih tinggi. Sedangkan pada metode sonikasi dimungkinkan lebih banyak mengekstrak komponen selain metabolit sekunder seperti beberapa jenis gula, glikosida, dan karbohidrat yang memiliki struktur kompleks dengan berat molekul tinggi dan larut terhadap air (Hasnaeni, dkk., 2019) sehingga, fasa organik yang diperoleh lebih sedikit daripada fasa airnya. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi maserasi yang lebih lama. Menurut (Koesnadi, dkk., 2021) lamanya waktu selama proses ekstraksi akan menghasilkan kenaikan nilai rendemen, hal tersebut dipengaruhi oleh peningkatan penetrasi pelarut ke dalam sampel.

4.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia adalah metode pengujian awal untuk menentukan kandungan senyawa aktif dalam tanaman. Uji ini dilakukan dengan penambahan reagen yang sesuai dengan senyawa aktif lalu dilihat perubahan yang terjadi. Pada penelitian ini

uji fitokimia dilakukan pada ekstrak kasar dan fraksi etil asetat hasil ekstraksi maserasi dan sonikasi.

Flavonoid dapat diidentifikasi menggunakan reagen Wilstater (Serbuk Mg dan HCl pekat). Pada ekstrak kasar diperoleh warna yang lebih pekat dari fraksi etil asetat, hal tersebut dipegaruhi masih banyaknya campuran senyawa pada ekstrak kasar sehingga dapat mempengaruhi kepekatan warna. Ekstrak hasil maserasi diperoleh perubahan warna dari hijau ke jingga. Ekstrak hasil sonikasi dari hijau ke merah. Fraksi hasil maserasi diperoleh perubahan warna dari kuning ke jingga, sedangkan pada fraksi etil asetat hasil sonikasi terjadi perubahan warna dari kuning ke jingga. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh Serbuk logam Mg dan HCl yang mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid dan membentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga (Khotimah, 2016). Warna merah yang timbul diduga merupakan flavonoid golongan (2,3 dihidroflavonol) dan warna jingga diduga sebagai flavonoid golongan flavon, auron, atau khalkon (Depkes, 1989). (Xu, dkk., 2018) mengidentifikasi adanya flavonoid golongan quersetin dan *quersetin-3-O- α - rhamnoside* pada daun petai cina.

Adanya kandungan steroid dan triterpenoid pada sampel dapat dilakukan dengan penambahan reagen Liebermann-Burchard. Perubahan warna yang terbentuk karena terjadi oksidasi pada senyawa steroid atau triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Sulistyarini, dkk., 2019). Perbedaan warna yang dihasilkan oleh steroid dan triterpenoid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana dan Saleh, 2011). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi positif mengandung steroid yang ditandai dengan warna hijau atau biru dan triterpenoid yang ditandai

dengan terbentuknya cincin kecoklatan. (Chen dan Wang, 2010) mengemukakan bahwa daun petai cina mengandung 4 senyawa steroid yaitu *5 α , 8 α -epidioxy(24c)-ergosta-6,22-dien-3 β -ol*, *β -sitosterol*, *β -sitostenone*, dan *stigmastenone*. Penelitian Sartinah, dkk. (2010) menyatakan bahwa daun petai cina mengandung senyawa lupeol yang merupakan golongan senyawa triterpenoid.

Golongan senyawa tanin dapat diuji dengan penambahan FeCl_3 1% (Sari, dkk., 2015). Penambahan FeCl_3 1% digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol yang ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru. Gugus fenol tersebut dimungkinkan adalah tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina, dkk., 2014). Semua sampel pada penelitian ini positif mengandung tanin yang ditandai dengan warna hijau kehitaman pada larutan. Hal tersebut disebabkan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} . (Zarin, dkk., 2016) mengidentifikasi adanya senyawa tanin berupa *procyanidin* dan *prodelphidin* pada daun petai cina.

4.4 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Analisis menggunakan KLT dilakukan dengan penotolan sampel pada lempeng KLT. Kemudian dielusi dengan fasa geraknya sampai batas atas lempeng. Bercak noda yang dihasilkan dapat diamati di bawah sinar UV_{254} dan UV_{366} nm. Pengamatan pada lampu UV didasarkan pada prinsip dimana pada gelombang pendek 254 nm, lempeng memberikan fluoresensi sedangkan sampel berwarna gelap, noda yang tampak timbul karena adanya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng KLT. Panjang gelombang 366 nm memberikan keadaan yang sebaliknya dimana noda memberikan fluoresensi

dan lempeng berwarna gelap, noda yang tampak timbul disebabkan oleh adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda (Gritter, dkk., 1991).

Berdasarkan Lampiran 4.6 eluen *n*-heksana: etil asetat (7: 3) merupakan eluen terbaik untuk ekstrak kasar dan fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi karena menghasilkan banyak noda, terpisah baik, dan jarak antar nodanya jelas. Eluen *n*-heksana dan etil asetat memiliki sifat kepolaran yang berbeda. *n*-heksana adalah eluen yang bersifat non polar dan etil asetat bersifat semi polar, namun dengan perbandingan volume yang berbeda, maka dapat dikatakan eluen yang digunakan bersifat non polar. Perolehan nilai R_f yang berbeda pada suatu sampel dipengaruhi oleh kepolaran senyawa yang terpisah. Senyawa dengan nilai R_f rendah mengindikasikan bahwa senyawa tersebut memiliki kepolaran yang tinggi sedangkan dan sebaliknya, sebab fasa diam (silica gel) memiliki sifat polar, sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar akan tertahan pada fasa diam dan senyawa dengan kepolaran rendah akan ikut terelusi oleh fasa gerak (Forestryana dan Arnida, 2020).

Hasil KLT ekstrak kasar memiliki noda yang lebih banyak dari fraksi etil asetat, hal tersebut dipengaruhi oleh ekstrak kasar yang masih banyak mengandung senyawa campuran. Terdapat rentang nilai R_f rendah, sedang, dan tinggi pada ekstrak kasar namun, pada fraksi etil asetat tidak terdapat noda dengan R_f rendah. Senyawa dengan nilai R_f rendah pada ekstrak kasar dimungkinkan komponen gula (glikon), glikosida flavonoid, dan tanin yang juga ditunjukkan oleh hasil positif flavonoid dan tanin pada uji fitokimia. Pada nilai R_f rendah dalam ekstrak kasar dan fraksi etil asetat diduga merupakan senyawa yang bersifat semi polar, seperti

aglikon polihidroksi (flavonoid), sedangkan pada nilai Rf tinggi merupakan senyawa yang bersifat non polar seperti klorofil, aglikon polimetoksi (flavonoid), steroid, dan triterpenoid (Harborne, 1987).

4.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan instrumen yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus kromofor pada suatu senyawa melalui panjang gelombang yang dihasilkan oleh transisi elektronik. Data yang diperoleh berupa absorbansi dan panjang gelombang. Setiap senyawa memiliki panjang gelombang yang khas sehingga, dapat diidentifikasi melalui serapan yang terbentuk.

Ekstrak kasar hasil maserasi dan sonikasi memiliki serapan pada panjang gelombang 665,0 dan 412,0 nm yang diduga merupakan hasil transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ pada cincin porfirin pigmen klorofil (Sulaiman, dkk., 2021), hal tersebut sesuai dengan hasil pengamatan visual dari ekstrak kasar yang memiliki warna hijau. Terdapat serapan 364,0 nm pada hasil maserasi dan 361,0 nm pada hasil sonikasi yang mengalami transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan oleh adanya gugus karbonil (C=O) (Mulja, 1995). Selain itu, terdapat serapan pada panjang gelombang 208,9; 207,1; dan 204,1 nm pada hasil maserasi sedangkan pada hasil sonikasi terdapat serapan pada 208,0 dan 204,0 nm. Serapan tersebut menunjukkan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan adanya gugus kromofor khas sistem ikatan rangkap dari cincin senyawa C=C terkonjugasi.

Pada fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi terdapat serapan pada panjang gelombang 666,0 dan 412,0 nm yang mengalami transisi elektronik dari $\pi \rightarrow \pi^*$ pada cincin porfirin pigmen klorofil (Sulaiman, dkk., 2022). Pengamatan

visual memperlihatkan warna hitam kecoklatan pada fraksi, namun tidak menutup kemungkinan masih terdapat klorofil didalamnya. Pada fraksi etil asetat hasil sonikasi terdapat serapan pada panjang gelombang 368,0 nm yang mengalami transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ (Markham, 1988). Selain itu, terdapat serapan pada panjang gelombang 208,0 dan 205,0 nm pada hasil sonikasi 204,0 nm pada hasil maserasi yang menunjukkan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Silverstein (1981) menyatakan bahwa munculnya serapan pada panjang gelombang 204 nm merupakan salah satu ciri khas dari senyawa triterpenoid..

4.6 Identifikasi Menggunakan FTIR

FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi melalui bilangan gelombang yang terlihat akibat vibrasi molekul. Data yang diperoleh berupa % transmitan dan bilangan gelombang yang merepresentasikan. Pada penelitian ini ekstrak hasil maserasi, sonikasi, fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi akan diidentifikasi senyawa aktif yang terkandung melalui gugus fungsi khas yang tampak.

Ekstrak kasar hasil maserasi dan sonikasi memiliki serapan pada daerah 3427,691 dan 3404,863 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus $-\text{OH}$ pada gugus alifatik. Gugus tersebut membentuk ikatan hidrogen antarmolekul (Sastrohamidjojo, 2001). Dugaan ini didukung dengan serapan pada panjang gelombang 1070,030 dan 1068,142 cm^{-1} yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-O. Serapan tajam dengan intensitas sedang tampak pada daerah 2926,095 dan 2922,956 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi ulur $-\text{CH}$ pada $-\text{CH}_2$. Sifat khas dari CH alkana adalah berada pada rentang bilangan gelombang 3000 – 2840 cm^{-1} . Hal

tersebut memberikan petunjuk bahwa struktur senyawa pada ekstrak kasar hasil maserasi dan maserasi mengandung gugus metil dan metilena. Hal ini juga diperkuat dengan vibrasi tekuk pada serapan 1451,690 dan 1450,946 cm^{-1} yang merupakan C-H pada CH_2 *bending*, sedangkan serapan pada 1374,927 dan 1365,207 cm^{-1} diidentifikasi sebagai C-H pada CH_3 *bending* yang mengindikasikan adanya gugus geminal dimetil $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ sebagai ciri khas senyawa triterpenoid atau sterol. Serapan pada geminal dimetil terpecah menjadi dua puncak dengan intensitas yang sama, namun kedua puncak tersebut tidak selalu nampak dan umumnya dijumpai sebagai satu puncak (Rahmi, dkk., 2016).

Hasil analisa menggunakan FTIR menunjukkan bahwa fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi memiliki serapan beberapa gugus fungsi. Spektrum IR menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3459,281 dan 3442,088 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi ulur O-H, dugaan ini diperkuat adanya serapan pada bilangan gelombang 1151,115 dan 1169,446 cm^{-1} yang diidentifikasi sebagai C-O alkohol. Karakteristik lain yang mendukung adalah adanya serapan yang diidentifikasi sebagai cincin aromatik (regangan C=C) sebagai gugus kromofor yang khas dari flavonoid dalam sistem ikatan konjugasi. pada serapan 1681,924 dan 1648,289 cm^{-1} . Vibrasi pada 2926,193 dan 2926,500 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatik untuk gugus metil dan metilena. Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi pada yang menunjukkan adanya gugus C-H alifatik pada serapan 1452,282 1453,200 cm^{-1} . Serapan pada 1681,924 dan 1648,289 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O (Dewi, dkk., 2017).

4.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan daun petai cina dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data yang diperoleh berupa absorbansi sampel dan kontrol DPPH kemudian dihitung aktivitas antioksidannya menggunakan persamaan. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,2 mM sebesar 515,1 nm.

Pada pengujian sampel dibuat larutan dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian diencerkan dalam beberapa konsentrasi dan direaksikan dengan DPPH. Sampel uji divortex selama 1 menit untuk menghomogenkan larutan dan diinkubasi selama 30 menit yang bertujuan untuk mengoptimalkan reaksi antara larutan sampel dengan larutan DPPH agar berlangsung sempurna sebelum dilakukan pengukuran (Andi, 2014). Reaksi yang terjadi antara sampel dan DPPH ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang berasal dari gugus pikril seperti pada gambar 4.9. Hal tersebut disebabkan oleh adanya donor atom H dari sampel ke DPPH membentuk DPPH-H (DPPH tereduksi) (Molyneux, 2004).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak daun petai cina hasil maserasi, sonikasi, fraksi etil asetat hasil maserasi, dan sonikasi masing-masing sebesar 19,19; 20,37; 17,56; dan 18,10 ppm. Sehingga, daun petai cina dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai $IC_{50} < 50$. Pada ekstrak kasar hasil maserasi dan sonikasi memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan fraksi etil asetatnya, demikian dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat lebih mampu meredam radikal bebas DPPH. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh efek kepolaran pelarut (Tomsone dan Kruma, 2013). Berdasarkan data literatur menunjukkan bahwa pelarut semi polar seperti etil asetat

memiliki kemampuan yang kuat sebagai penangkal radikal bebas daripada pelarut polar (etanol) (Aliyu dkk., 2011); (Sutomo dkk., 2018); (Moein dkk., 2015). Perbedaan ini membuktikan bahwa perolehan senyawa fenolik dari ekstrak daun petai cina dipengaruhi oleh kelarutannya dalam pelarut etil asetat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Suryanto dkk., 2017) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan fraksi etil asetat tongkol jagung lebih tinggi dari ekstrak etanol.

Besarnya daya antioksidan suatu senyawa perlu dibandingkan dengan suatu pembanding sebagai kontrol positif untuk mengetahui seberapa besar aktivitasnya. Senyawa yang digunakan sebagai kontrol positif harus terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi seperti asam askorbat (Vitamin C) (Prayitno, dkk., 2019). Pada penelitian ini diperoleh nilai IC_{50} asam askorbat sebesar 4,78 ppm, dimana aktivitas antioksidannya sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ ppm. Hal tersebut dikarenakan asam askorbat merupakan senyawa murni yang aktivitasnya tidak akan dipengaruhi oleh senyawa lain, sedangkan daun petai cina memiliki berbagai senyawa aktif yang dapat bersifat sinergis atau antagonis sehingga, memiliki aktivitas yang berbeda tiap perlakuannya.

Berdasarkan uji Two Way ANOVA yang terlampir pada lampiran 4 menyatakan bahwa nilai Sig untuk metode ekstraksi sebesar $0,971 > 0,05$ dan $0,833 > 0,05$ untuk tingkat kemurnian sampel, maka dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi dan tingkat kemurnian sampel tidak berpengaruh secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan. Diperoleh nilai Sig $0,604 > 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa tidak ada interaksi antara metode ekstraksi dan tingkat kemurnian sampel yang mempengaruhi aktivitas antioskidan daun petai cina.

4.8 Penelitian Daun Petai Cina dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan karunia yang telah Allah SWT ciptakan agar dapat diambil manfaatnya. Sebagaimana Firman-Nya dalam surat Az-Zumar ayat 21:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنْبِيعٌ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطْمًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ

Artinya: *“Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanaman-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal” (QS. az-Zumar: 21).*

Kata zar’an memiliki arti tanaman-tanaman, mukhtalifan artinya bermacam-macam, dan kata alwanuhu artinya warna. Hal ini dimaksudkan bahwa tumbuhan memiliki bermacam-macam warna, rasa, bentuk, atau bahkan manfaat. Ayat ini menjadi tanda bahwa semua makhluk hidup terutama tumbuhan memiliki sifat dan manfaat yang berbeda-beda (Departemen Agama RI, 2002). Salah satu tanaman yang kaya akan manfaat adalah petai cina.

Masyarakat Indonesia dan negara-negara Asia sejak dahulu mengenal dan memanfaatkan daun petai cina sebagai obat-obatan diantaranya sebagai obat luka. Daun petai cina juga sudah dikenal masyarakat dan dimanfaatkan sebagai obat bengkak, dengan cara dikunyah-kunyah atau diremas, kemudian ditempelkan pada bagian yang bengkak (Wahyuni, 2006). Masyarakat Meksiko dan Zimbabwe memanfaatkan daun petai cina untuk pakan ternak yang dapat meningkatkan produksi susu ternak. Masyarakat Peru memanfaatkan kulit batang dan bunga petai cina digunakan sebagai antiseptik (Bussman dkk., 2010), sedangkan di Thailand

pucuk daun petai cina digunakan untuk mengobati diare (Chanwitheesuk dkk., 2005). Umumnya tanaman petai cina dapat tumbuh baik pada daerah yang memiliki iklim tropis (suhu hariannya sekitar 25 - 30°C) dengan curah hujan 650 - 3.000 mm pertahun (Rivai, 2021). Allah berfirman dalam surat Abasa ayat 24-32:

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ (٢٤) أَنَّا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا (٢٥) ثُمَّ شَفَعْنَا الْأَرْضَ شَفْعًا (٢٦) فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (٢٧) وَعِنَبًا وَقَضْبًا (٢٨) وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا (٢٩) وَحَدَائِقَ غُلْبًا (٣٠) وَفَاكِهَةً وَأَبًّا (٣١)
مَتَاعًا لَكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ (٣٢)

Artinya: “(24) Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya (25) Sesungguhnya Kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit), (26) kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya (27) lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu (28) anggur dan sayur-sayuran (29) zaitun dan kurma (30) kebun-kebun (yang) lebat (31) dan buah-buahan serta rumput-rumputan (32) untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu.” (QS. Abasa: 24-32).

Berdasarkan Tafsir Al-Muyassar dari Kementerian Agama Saudi Arabia menafsirkan ayat tersebut bahwa hendaklah manusia mencermati makanannya. Allah mengatur dan memudahkan mereka untuk mendapatkan makanan tersebut dengan menurunkan hujan dari langit, kemudian membelah tanah dan mengeluarkan tumbuhan sehingga, manusia dapat memanfaatkannya. Pada kitab An-Nafahat Al-Makkiyah karya Syaikh Muhammad bin Shalih asy-Syawi menafsirkan ayat tersebut bahwa Allah menciptakan tumbuhan karena sebab manfaat bagi mereka. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa surah Abasa ayat 24-32 sebagai kenikmatan, kesenangan dan juga manfaat pada tumbuh-tumbuhan yang sudah diciptakan oleh Allah SWT untuk manusia. Berdasarkan Hadits Riwayat Bukhori, Rasulullah bersabda:

نِعْمَتَانِ مَعْبُودٌ فِيهِمَا كَثِيرٌ مِنَ النَّاسِ الصَّحَّةُ وَالْفَرَاغُ

Artinya: "Dua kenikmatan yang sering dilupakan oleh kebanyakan manusia adalah kesehatan dan waktu luang." (HR. Bukhori)

Menurut Ibnu Bathal makna hadits ini adalah nikmat yang paling sering dilupakan oleh seseorang adalah badan sehat dan waktu luang. Barangsiapa yang memiliki kedua hal tersebut hendaknya bersemangat agar tidak mengingkari nikmat dan senantiasa bersyukur kepada Allah. Rasa syukur kepada Allah dapat diimplementasikan dengan melaksanakan segala perintah-Nya dan menjauhi segala larangan-Nya. Hadits tersebut juga mengandung makna tersirat bahwa kesehatan juga patut dijaga, salah satunya dengan mengonsumsi makanan bergizi (Al-Asqilani, 2009).

Daun petai cina mengandung zat aktif berupa protein, lemak, mimosin, lektin, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, dan vitamin B (Kurnia dkk., 2019). Gizi yang terkandung dalam daun petai cina tersebut sangat bermanfaat bagi kehidupan sehari-hari, seperti protein sebagai sumber asam amino esensial yang berfungsi untuk pertumbuhan dan pembentukan jaringan, mengganti sel yang rusak, serta dapat memelihara keseimbangan asam basa cairan dalam tubuh (Anissa dan Dewi, 2021). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Rahayu dkk., 2021) menyatakan bahwa daun petai cina mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Hidayat dkk., 2020), antibakteri (Pakpahan dan Sutriningsih, 2020), antiinflamasi (Praja dan Oktarlina, 2016), antidiabetes (Rachmatiah dkk., 2018), dan antikanker (Noviardi dkk., 2019). Sebagaimana Firman Allah dalam surat Al-A'raf ayat 31:

يٰۤاَيُّهَا اٰدَمُ خُذْ زِينَتَكَ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلْ وَاشْرَبْ وَلَا تُسْرِفْ ۗ اِنَّهٗ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِيْنَ

Artinya: "Wahai anak cucu Adam! Pakailah pakaianmu yang bagus pada setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan. Sungguh, Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan".

Pada masa jahiliyah, manusia yang mengerjakan haji hanya memakan makanan yang mengenyangkan saja, tanpa memperhatikan gizi yang terkandung didalamnya. Oleh sebab itu dengan turunnya ayat ini makanan dan minuman harus diperhatikan gizinya, dengan begitu manusia dapat lebih kuat dalam beribadah (Kementrian Agama RI, 2011). Ayat tersebut diatas menjelaskan tentang perintah memakan makanan bergizi, agar diperoleh tubuh yang sehat dan dapat melindungi dari ancaman berbagai penyakit. Salah satu cara dalam menjaga kesehatan tubuh adalah dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan agar dapat terlindungi dari pengaruh buruk radikal bebas. Daun petai cina terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat seperti yang tercantum dalam tabel 4.12. Selain itu, kandungan senyawa aktifnya juga cukup beragam, seperti flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid. Hal tersebut dapat dijadikan alasan pemanfaatan daun petai cina sebagai acuan dalam bidang kedokteran dan farmasi untuk bahan baku pembuatan obat.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak kasar hasil maserasi dan sonikasi mengandung flavonoid, triterpenoid, dan tanin, sedangkan fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi mengandung flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin.
2. Daun petai cina pada ekstrak kasar hasil maserasi dan sonikasi, serta fraksi etil asetat hasil maserasi dan sonikasi tergolong antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut 19,19; 20,37; 17,56; dan 18,10 ppm.

5.2 Saran

Penelitian ini diperlukan ekstraksi berulang dan optimasi waktu pada metode sonikasi untuk mendapatkan rendemen yang lebih tinggi. Pada kedua hasil fraksi etil asetat diperlukan pengaliran gas N_2 setelah dirotary evaporator hingga beratnya konstan. Diperlukan uji aktivitas lain seperti toksisitas, antibakteri, antiinflamasi, dsb. untuk mengetahui potensi daun petai cina sebagai bahan baku obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E. 2018. Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Tanaman Petai Cina (*Leucaena Leucochepala* [Lamk.] de Wit. *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2), 203–208.
- Al-Asqilani, I. H. 2009. *Fathul Baari*. Jakarta: Pustaka Azam.
- Al-Maraghi, A. M. 2000. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi Jilid III*. PT. Karya Thoha Putra.
- Aliyu, A. B., Ibrahim, M. A., Musa, A. M., Tulus, T., dan Oyewale, A. O. 2011. Phenolics Content and Antioxidant Capacity of Extract and Fractions of *Vernonia Blumeoides* (*Asteraceae*). *International Journal Of Biological Chemistry*, 5(6), 352–359.
- Andi. 2014. Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Pada Sediaan Krim Terhadap DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Skripsi*.
- Anissa, D. D., dan Dewi, R. K. 2021. Peran Protein: ASI Dalam Meningkatkan Kecerdasan Anak Untuk Menyongsong Generasi Indonesia Emas 2045 Dan Relevansi Dengan Al-Qur'an. *Jurnal Tadris IPA Indonesia*, 1(3), 427–435.
- Aprelia, F., dan Suyatno. 2013. Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Tumbuhan Paku *Christella Arida* dan Uji Pendahuluan Sebagai Antibakteri. *UNESA Journal Of Chemistry*, 2(3), 94–99.
- Artati, E. K., H., F. I. W., dan Fatimah. 2012. Pengaruh Jenis Dan Konsentrasi Asam Terhadap Kinetika Reaksi Hidrolisis Pelepah Pisang (*Musa Paradisiaca L.*). *Ekulibium*, 11(2), 73–77.
- Audah, K. A., Manuella, J., A., M., H. A., dan H., S. 2018. Ultrasound-Assisted Extraction As Efficient Method For Obtaining Optimum Antioxidant From Mangrove Leaves Of Fp-07 Ultrasound-Assisted Extraction As Efficient Method For Obtaining Optimum Antioxidant From Mangrove Leaves of *Rhizophora Mucronata*. *International Journal Of Pharma And Bio Sciences*, January 2019, 47–55.
- Auliawan, R., dan Cahyono, B. 2014. Efek Hidrolisis Daun Iler (*Coleus Scutellarioides*) Terhadap Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase. *Jurnal Sains dan Matematika*, 22(1), 15-19.

- Aziz, J. S. I. D., dan Mirwa Adiprahara A. 2021. Penentuan Total Fenolik, Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bawang Kucai (*Allium Tuberosum*). *UNESA Journal Of Chemistry*, 10(3).
- Badarinath, A. V, Rao, K. M., Madhu, C., Chetty, S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., dan Gnanaprakash, K. 2010. A Review On In-Vitro Antioxidant Methods: Comparisions, Correlations And Considerations. *International Journal Of Pharmtech Research*, 2(2).
- Burke, R. W., Diamondstone, B. I., dan R A Velapoldi, O. M. 1974. Mechanisms of The Liebermann-Burchard And Zak Color Reactions For Cholesterol. *Clinical Chemistry*, 20(7), 794–801.
- Bussman, R. W., Glenn, A., dan Shara, D. 2010. Antibacterial Activity of Medical Plants of Northen Peru-Can Tradisional Applications Provide Leads For Modern Science?. *Indian Journal Of Tradisional Knowledge*, 9(4), 742–743.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., dan Rakariyatham, N. 2005. Screening Of Antioxidant Activity And Antioxidant Compounds of Some Dible Plants Of Thailand. *J. Food Chemistry*, 92, 491–497.
- Chen, C. Y., dan Wang, Y. Der. 2010. Polyprenol From The Whole Plants of *Leucaena Leucocephala*. *Journal Of Environmental Protection*, 01(01), 70-72.
- Cuvelier, M. E., Richards, H., dan Berset, C. 1994. Comparison of The Antioxidative Activity of Some Acid Phenols: Structureactivity Relationship. *Journal Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 2, 324–325.
- Datu, F. N. ., Hasri, H., dan Pratiwi, D. E. 2021. Identifikasi dan Uji Kestabilan Tanin Dari Daging Biji Pangi (*Pangium Edule Reinw.*) Sebagai Bahan Pewarna Alami. *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 22(1), 29.
- Dalimartha, Setiawan. 2009. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta: Puspa Swara.
- Dewi, N. W. O. A. C., Puspawati, N. M., Swantara, I. M. D., I. A. R. Astiti, dan Rita, W. S. 2014. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum Betaceum*) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia*, 2(1), 9–9.
- Dewi, N. W. R. K., Gunawan, I. W., dan Puspawati, N. M. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Golongan Flavonoid Dari Ekstrak Etil

Asetat Daun Pranajiwa (*Euchresta Horsfieldii* Lesch Benn.). *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 5(1), 26.

Ergina, Nuryanti, S., dan Pursitasari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air Dan Etanol. *J. Akad. Kim*, 3(3), 165–172.

Eritriana, Risty Elia, Azizah Hana Rosiana, Yulia Tantri, dan Endri Ekayanti. 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala* L.) sebagai Alternatif Penyembuhan Luka Abrasi. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, 10(4), 290 - 294.

Fahrurrozi, L. A. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Petai Cina (*Leucaena Glauca* (L.) Benth.) dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil). *Jurnal Farmasi Klinis Dan Sains Bahan Alam*, 1(1), 27–32.

Fasya, A. G., Dinasti, A. R., Shofiyah, M., Rahmawati, L. M., Millati, N., Safitri, D. A., Handoko, S., Hanapi, A., dan Ningsih, R. 2018. Ekstraksi, Hidrolisis Dan Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella* Sp. *Alchemy*, 5(1).

Forestryana, D., dan Arnida, A. 2020. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113.

Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar.

Gritter, R. J., J.M., B., dan E, S. A. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Bandung: ITB.

Handayani, H., dan Sriherfyna, F. H. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 262–272.

Handoko, S. P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa Pada Variasi Suhu Dan Jenis Asam Sebagai Katalis. *SIGMA: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 9(10000).

Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB

Hasanah, M., Maharani, B., dan Munarsih, E. 2017. Daya Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 42.

- Hasnaeni, Wisdawati, dan Usman, S. 2019. Formulasi Dan Analisis Nilai Gizi Bakso Kotak Dari Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, 5(2), 166–174.
- Hendryani, R., Lutfi, M., dan Hawa, L. C. 2015. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah Kering (*Piper Croctatum*) dengan Metode Pra-Perlakuan Ultrasonic Assisted Extraction (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 3(2), 33–38.
- Hidayat, T., Hamzah, B., dan Jura, M. R. 2020. Determination of Total Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of *Leucaena Leucocephala* Leaves's Extract. *Jurnal Akademika Kimia*, 9(2), 70–77.
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., dan V. 2021. Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus Androgynus (L.) Merr*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), 1.
- Hogiono, D. 1994. Peningkatan Nilai Tambah Tanaman Hortikultura Yang Berpotensi Sebagai Bahan Dasar Sintesis Obat-Obatan Steroid. *Jurnal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*.
- Ibrahim, F., Fadli, Z., Komunitas, Y. B.-J. K., dan 2021, U. 2020. Pengaruh Metode Ekstraksi (Dekoktasi, Infudasi, dan Microwave) Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Rumput Laut *Gracilaria Verrucosa*. *Prosiding Knalstech*.
- Ikhmal, W. M. K. W. M., Maria, M. F. M., Rafizah, W. A. W., Norsani, W. N. W. M., dan Sabri, M. G. M. 2019. Corrosion Inhibition of Mild Steel In Seawater Through Green Approach Using *Leucaena Leucocephala* Leaves Extract. *International Journal Of Corrosion And Scale Inhibition*, 8(3), 628–643.
- Illing, I., Safitri, W., dan Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen Ilmiati Illing, Wulan Safitri Dan Erfiana. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Indrasti, D., Andarwulan, N., Purnomo, E. H., dan Wulandari, N. 2019. Stabilitas Klorofil Daun Suji (*Dracaena Angustifolia (Medik.) Roxb*). *Skripsi IPB*.
- Jayanti, N. W., Astuti, M. D., Komari, N., dan Rosyidah, K. 2019. Isolasi Dan Uji Toksisitas Senyawa Aktif dari Ekstrak Metilena Klorida (MTC) Lengkuas Putih (*Alpinia Galanga (L)Willd*). *Chemistry Progress*, 5(2), 100–108.
- Juniarti, Osmeli, D., dan Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazyl) Ekstrak Daun Saga (*Abrus Precatorius L.*). *Makara Sains.*, 13.

- Kannan, L., dan Satyamoorthy, T. S. 2009. An Epidemiological Study Of Hypertension in a Rural Household Community. *Sri Ramachandra Journal Of Medicine*, 2(2).
- Khopkar, S. M. 2007. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press.
- Khotimah, K. 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain Pada Ekstrak Metanol Daun *Carica Pubescens Lenne* dan *K. Koch* dengan LC/MS (*Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry*). *Skripsi UIN Malang*.
- Khowas, A. D. F. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Daun Beluntas (*Pluchea Indica L.*) Hasil Ekstraksi Ultrasonik dengan Variais Pelarut. *Skripsi UIN Malang*.
- Koesnadi, E. A., Putra, I. N. K., dan Wiadnyani, S. 2021. Pengaruh Waktu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora Foetida L.*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(3), 357.
- Kurnia, E. D., Ratnasari, D., dan Helmiawati, Y. 2019. Pembuatan Gel Ekstrak Daun Petai Cina (*Leucaena Glauca*, Benth) dengan Basis Gel Lidah (*Aloe Vera L.*) Buaya Sebagai Obat Luka Terbuka. *Journal of Holistic And Health Sciences*, 3(1), 39–45.
- Kwon, Y. S., dan Kim, C. M. 2003. Antioxidant Constituent From The Stem of *Sorghum Bicolor*. *Arch. Pharm. Res*, 7.
- Lathifah. 2018. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaemferia Galanga L.*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil). *Skripsi UIN Malang*.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., dan Al Anshori, J. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP, dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat Dan Kuersetin. *Chimica Et Natura Acta*, 6(2), 93.
- Maharani, T., Sukandar, D., dan Hermanto, S. 2016. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra Cauliflora L.*) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri. *Jurnal Kimia VALENSI*, 2(1), 55–62.

- Mardawati, E., Filianty, F., dan Marta, H. 2008. Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostanal*) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis Di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *TEKNOTAN: Jurnal Industri Teknologi Pertanian*, 7(3).
- Mardiyah, U. A., Fasya, G., Fauziyah, B., dan Amalia, S. 2014. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma Spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Alchemy*, 3(1).
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Diterjemahkan Oleh Kosasih Padmawinata*,. Bandung: ITB.
- Marliana, E., dan Saleh, C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi N-Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenaria Siceraria (Molina) Standl*). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2), 63-69.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule Jacq. Swartz.*) Dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., dan Wuntu, A. D. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea Americana Mill.*). *Jurnal MIPA*, 1(1), 24.
- Moein, S., Moein, M., dan Farmani, F. 2015. Different Methods Evaluation Of Antioxidant Properties of Myrtus Communis Extract and its Fractions. *Trends In Pharmaceutical Science*, 1(3), 153–158.
- Molyneux. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn*, 3.
- Mugitasari, D. E., dan Rahmawati, B. 2020. Formulasi Krim Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) Sebagai Sediaan Pelindung Sinar Ultraviolet. *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat*, 9(2), 109–119.
- Muharni. 2010. Triterpenoid Lupeol Dari Manggis Hutan (*Garcinia Bancana Miq.*). *Jurnal Penelitian SAINS*, 13.
- Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Bumi Aksara.
- Mustikasari, K., dan Ariyani, D. 2008. The Study Potency of Binjai (*Mangifera Caesia*) and Kasturi (*Mangifera Casturi*) as Antidiabetic by Phytochemistry

Screening on Roots and Stem. *Sains dan Terapan Kimia*, 2(2), 64–73.

- Narulita, R. 2018. Pengaruh Lama Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Kulit Batang *Mangrove Sonneratia Caseolaris* Di Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar Jawa Timur. *Skripsi Universitas Brawijaya*.
- Njateng, G. S. S., Du, Z., Gatsing, D., Mouokeu, R. S., Liu, Y., Zang, H. X., Gu, J., Luo, X., dan Kuate, J. R. 2017. Antibacterial and Antioxidant Properties of Crude Extract, Fractions, and Compounds from the Stem Bark of *Polyscias Fulva* Hiern (Araliaceae). *BMC Complementary And Alternative Medicine*, 17(1), 1–8.
- Noviardi, H., Yuningtyas, S., dan Suwarni, D. 2019. Sitotoksitas Kombinasi Ekstrak Daun Petai Cina Dan Kulit Jengkol Terhadap Sel Kanker Payudara dan Serviks. *Biopropal Industri*, 10(2), 109.
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum* Roxb.). *Journal*, 366, 1–7.
- Pakpahan dan Sutriningsih. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Butanol Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala* (Lam.) de Wit) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Epidermidis* Secara In Vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(2), 12–19.
- Pasaribu, G., dan Setyawati, T. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Kulit Kayu Raru (*Cotylelobium Sp.*). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 29(4), 322–330.
- Pertiwi, M., Soetjipto, H., dan Hartini, S. 2014. Isolasi Saponin Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala* (Lam.) de Wit.) dan Aplikasinya Sebagai Pembusa Alami Serta Agensia Antibakteri Dalam Shampo. 1–23.
- Praja, M. H., dan Oktarlina, R. Z. 2016. Uji Efektivitas Daun Petai Cina (*Laucaena Glauca*) Sebagai Antiinflamasi dalam Pengobatan Luka Bengkak. *Majority*. 5 (5), 86-89.
- Pramita, D., Harlia, dan Sayekti, E. 2013. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum (*Polygonum Minus* Huds). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(3), 142–147.
- Prayitno, B., Rosyidah, K., dan Astuti, M. D. 2019. Uji Antioksidan Senyawa

- Terpenoid Dari Fraksi M-17 Ekstrak Metilena Klorida Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera Casturi*). *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 42–36.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., dan Larasanty, L. P. F. 2013. Phytochemical Screening Ethyl Acetate Extract Of Mangosteen Peel (*Garcinia Mangostana L.*). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56–59.
- Rachmatiah, T., Nurvita, H., dan D, R. T. 2018. Potensi Antidiabetes Pada Tumbuhan Petai Cina (*Leucaena Leucocephala* (Lam). De Wit). *Sainstech: Jurnal Penelitian Dan Pengkajian Sains Dan Teknologi*, 25(1), 115–118.
- Rahayu, E. S., Wirasti, Slamet, dan Pambudi, D. B. 2021. Evaluasi Aktivitas Antibakteri Sediaan Plester Ekstrak Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Prosiding Seminar Kesehatan Nasional Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan* 1–7.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., dan Amalia, V. 2015. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *Al-Kimiya*, 2(1), 1–8.
- Rahmatullah, M., dan Putro, S. S. 2016. Sintesa dan Karakterisasi Partikel Nanokomposit Zno-Silika Sebagai Fotokatalis dengan Metode Sonikasi. *Skripsi ITS*.
- Rahmayani, U., Pringgenies, D., dan Djunaedi, A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (*Telescopium Telescopium*) dengan Pelarut Yang Berbeda Terhadap Metode DPPH (*Diphenyl Picril Hidrazil*). *Journal Of Marine Research*, 2(4), 36–45.
- Rahmi, Herawati, N., dan Dini, I. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*). *Jurnal Chemica*. 17 (1), 98–107.
- RI, Departemen Agama. 2002. *Al-Qur'an Dan Terjemahan*. Semarang: Toha Putra.
- Rianti, A., Parassih, E. K., Novenia, A. E., Christpoher, A., Lestari, D., dan Kiyat, W. El. 2018. Potential of Petai (*Parkia Speciosa*) as an Antioxidant Source. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(1), 10–19.
- Rivai, H. 2021. *Petai Cina (Leucaena Leucocephala): Penggunaan Tradisional, Fitokimia, Dan Aktivitas Farmakologi*. Yogyakarta: Deepublish.

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Diterjemahkan Oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata*. Bandung: ITB Press.
- Rohmah, S. N., Fuadah, D. Z., dan Girianto, P. W. R. 2012. Efektivitas Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala*) dan Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Grade II Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Ilmu Keperawatan*, 4(1), 289.
- Rusdi. 1990. *Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., dan Simbala, H. E. I. 2008. Analisa Fitokimia Obat Di Minahasa Utara. *Chemistry Progres*, 1(1), 47–53.
- Sannigrahi, S., Mazuder, U. K., Pal, D. K., Parida, S., dan Jain, S. 2010. Antioxidant Potential of Crude Extract and Different Fractions of *Enhydra Fluctuans Lour*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(1), 75–82.
- Saraswati, I. G. A. K. W., Suter, I. K., dan Wiadnyani, A. A. I. 2021. Pengaruh Jenis Pelarut dan Rasio Bahan dengan Pelarut Pada Metode Ultrasonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Beluntas. *ITEPA: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 10(1), 24–35.
- Sarfina, J., Nurhamidah, N., dan Handayani, D. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Ricinus Communis L* (Jarak Kepyar). *Alotrop*, 1(1), 66–70.
- Sari, P. P., Rita, W. S., dan Puspawati, N. M. 2015. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman (Jacq.) Merr*) Sebagai Antibakteri *Escherichia Coli (E. Coli)*. *Jurnal Kimia*, 9(1), 27–34.
- Sartinah, A., Astuti, P., dan Wahyuono, S. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala (Lam.) De Wit.*). *Majalah Obat Tradisional*, 15(3), 22–28.
- Sastrohamidjojo. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi (Kedua)*. Yogyakarta: Liberty.
- Septyaningsih, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus Conoideus Lamk.*). *Skripsi*, Universitas Sebelas Maret.

- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan Dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Silverstein. 1981. *Silverstein - Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th Ed.Pdf*. New York: State University of New York, John Wiley & Sons, Inc
- Suhendi, A., Sjahid, L. R., dan Anwar, D. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia Uniflora L.*). *Pharmacon*, 12(2), 73–81.
- Sulaiman, A., Silalahi, I. H., Shofiyani, A., Widiyantoro, A., dan Harlia. 2021. *Indonesian Journal of Pure And Applied Chemistry*. 4(2), 91–101.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., dan Wicaksono, T. A. 2019. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Sumenda, L. 2011. Analisis Kandungan Klorofil Daun Mangga (*Mangifera Indica L.*) Pada Tingkat Perkembangan Daun Yang Berbeda. *Jurnal Bios Logos*, 1(1).
- Suryanto, E., Momuat, L. I., Kimia, J., Matematika, F., Alam, P., Ratulangi, U. S., Unsrat, J. K., dan Utara, S. 2017. Isolasi dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea Mays*). *Agritech*, 37(2), 139–147.
- Sutomo, S., Mangkurat, U. L., Wahyuono, S., Mada, U. G., Setyowati, E. P., Mada, U. G., dan Rianto, S. 2018. Antioxidant Activity Assay of Extracts and Active Fractions of Kasturi Fruit (*Mangifera casturi Kosterm.*) using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. *Journal of Natural Products*. 7, 124-130
- Tomsone, L., dan Kruma, Z. 2013. Comparison of Different Solvents for Isolation of Phenolic Compounds From Horseradish (*Armoracia Rusticana L.*) Leaves. *Research For Rural Development*, 1, 104–110.
- Torres, N. M., Talavera, T. A., Andrews, H. E., Contreras, A. S., dan Pacecho, N. 2017. Ekstraksi dengan Bantuan Ultrasound Untuk Pemulihan Senyawa Fenolik Dari Sumber Sayuran. *Agronomi*, 7.
- Tsani, D. M. 2020. Aktivitas Antioksidan dan Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Bawang Merah Hasil Sonikasi Dengan Variasi Pelarut. *Skripsi UIN Malang*.
- Utami, N. F., Nurdayanty, S. M., Sutanto, dan Suhendar, U. 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus Scutellarioides*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83.

Wahyuni. 2006. *Pengetahuan Dalam Pangan Dan Gizi*. Mulia Medika.

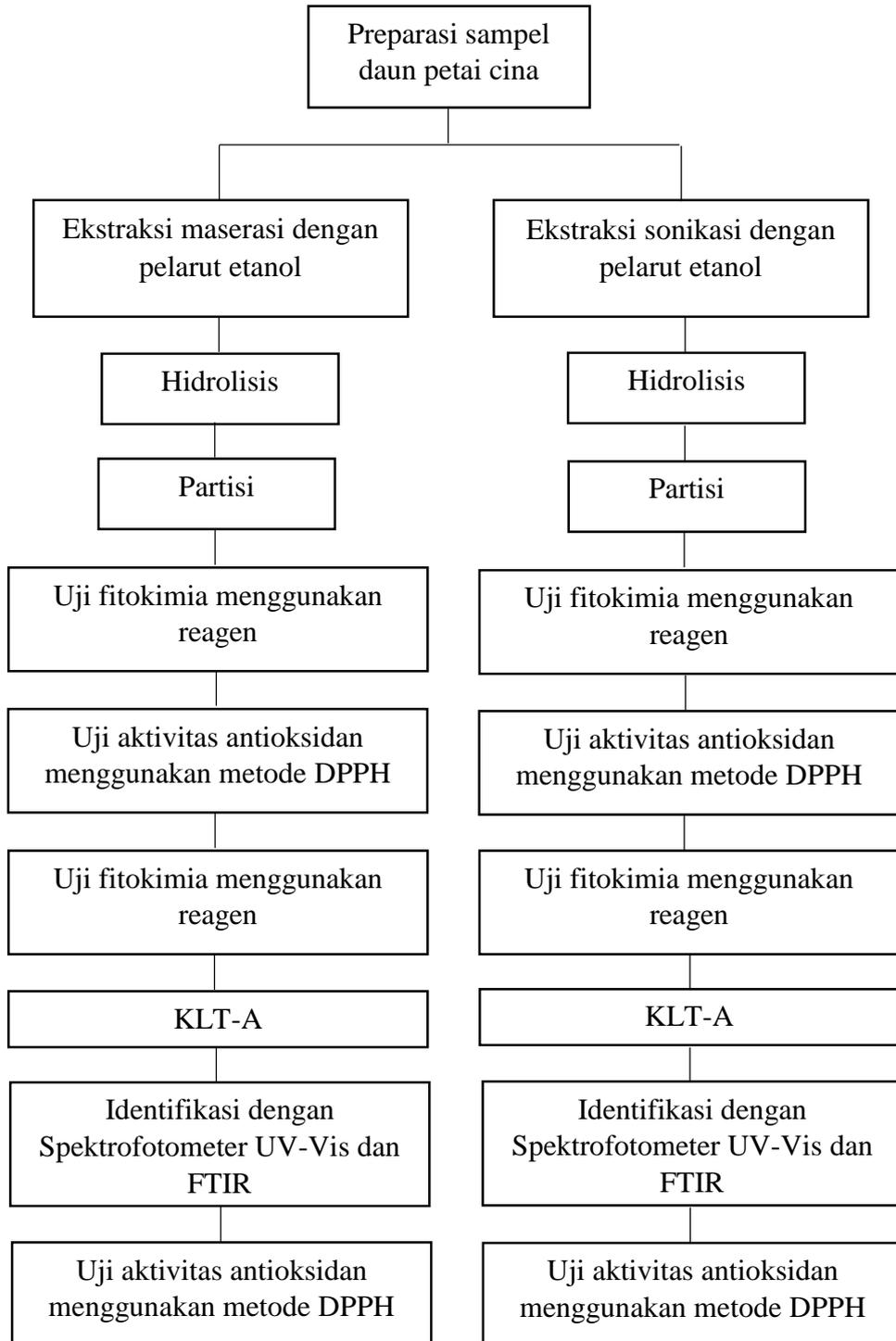
Xu, Y., Tao, Z., Jin, Y., Chen, S., Zhou, Z., Gong, A. G. W., Yuan, Y., Dong, T. T. X., dan Tsim, K. W. K. 2018. Jasmonate-Elicited Stress Induces Metabolic Change In The Leaves of *Leucaena Leucocephala*. *Molecules*. 23 (188).

Yulianti, D., Susilo, B., Yulianingsih, R., Keteknikan, J., Fakultas, P., Pertanian, T., Brawijaya, U., Veteran, J., dan Korespondensi, P. 2014. Pengaruh Lama Ekstraksi Dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Sifat Fisika-Kimia Ekstrak Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni M.*) dengan Metode Microwave Assited Extraction (MAE). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 2(1), 35–41.

Zarin, M. A., Wan, H. Y., Isha, A., dan Armania, N. 2016. Antioxidant, Antimicrobial And Cytotoxic Potential Of Condensed Tannins From *Leucaena Leucocephala* Hybrid-Rendang. *Food Science And Human Wellness*, 5(2), 65-75.

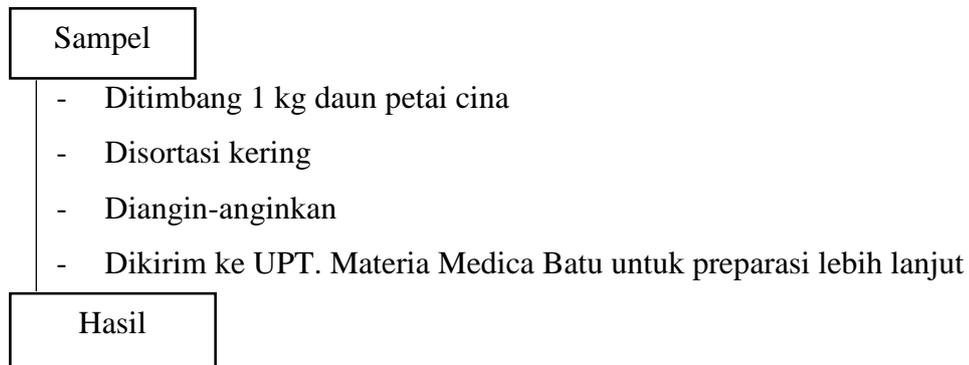
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



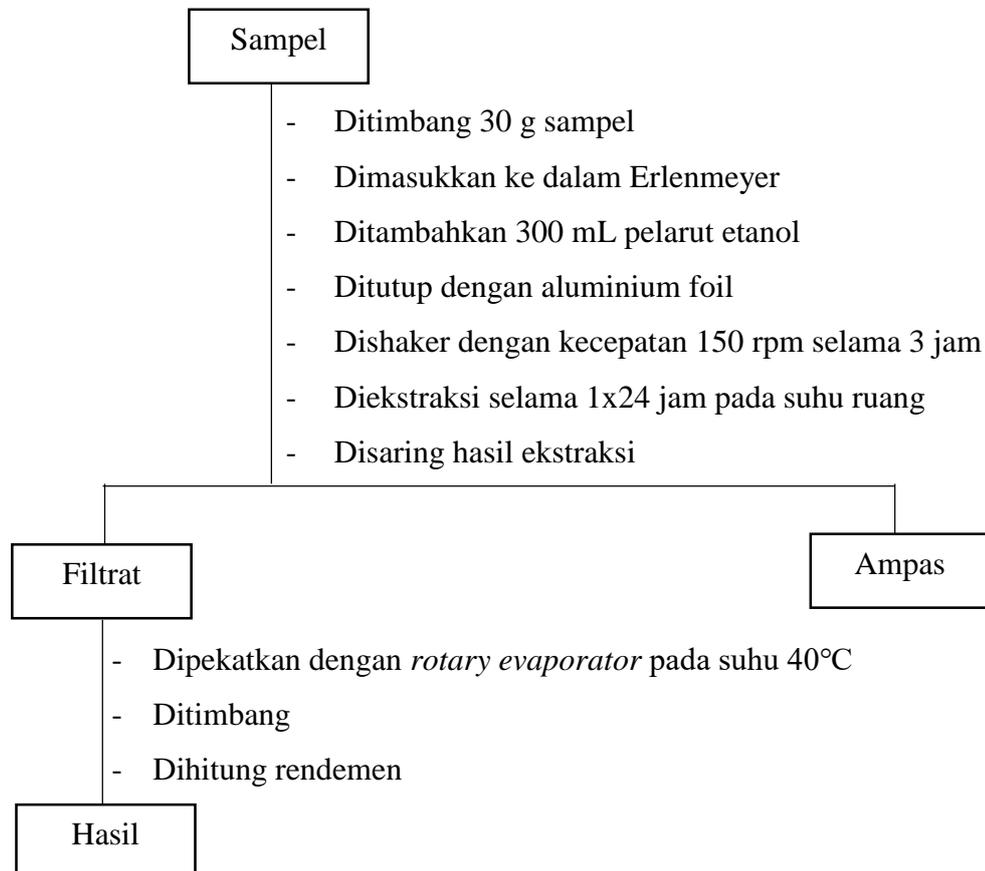
Lampiran 2. Skema kerja

L.2.1 Preparasi Sampel

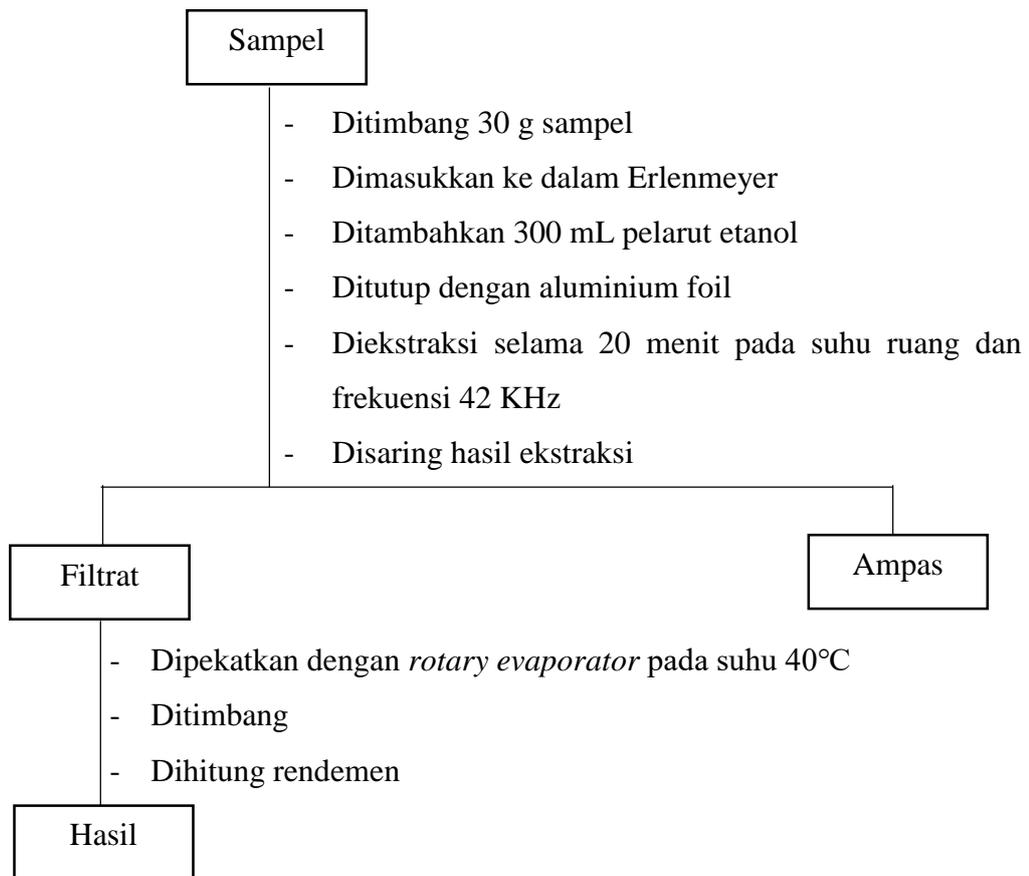


L.2.2 Ekstraksi

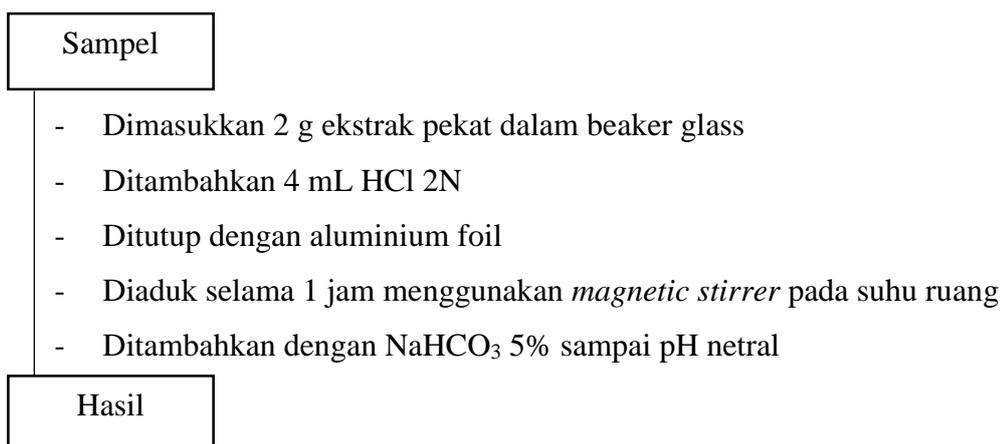
L.2.2.1 Ekstraksi Sampel dengan Metode Maserasi



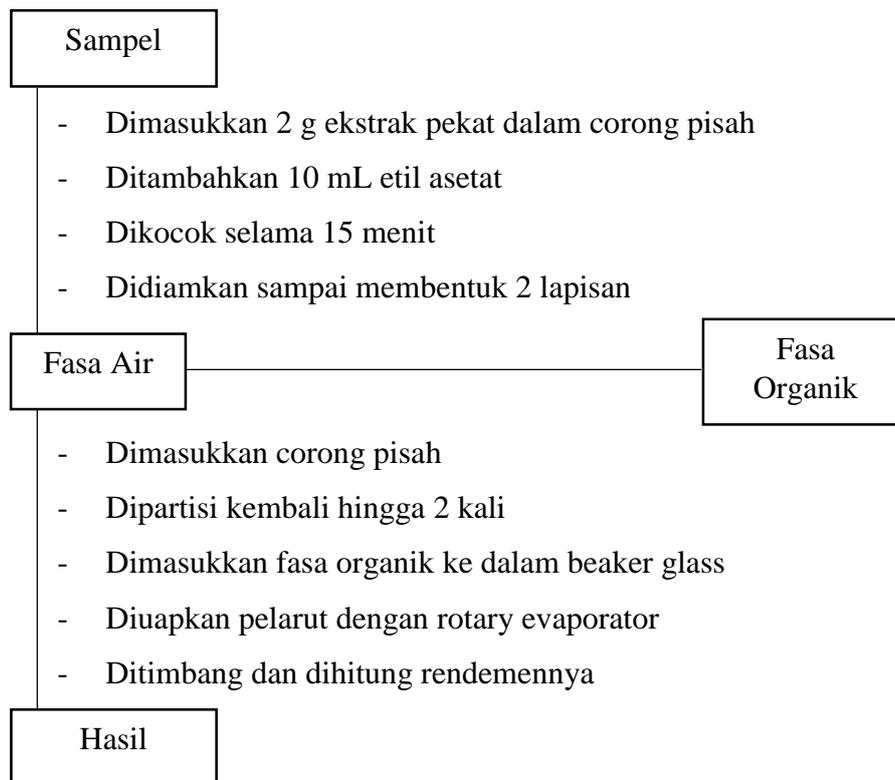
L.2.2.2 Ekstraksi Sampel dengan Metode Sonikasi



L.2.3 Hidrolisis

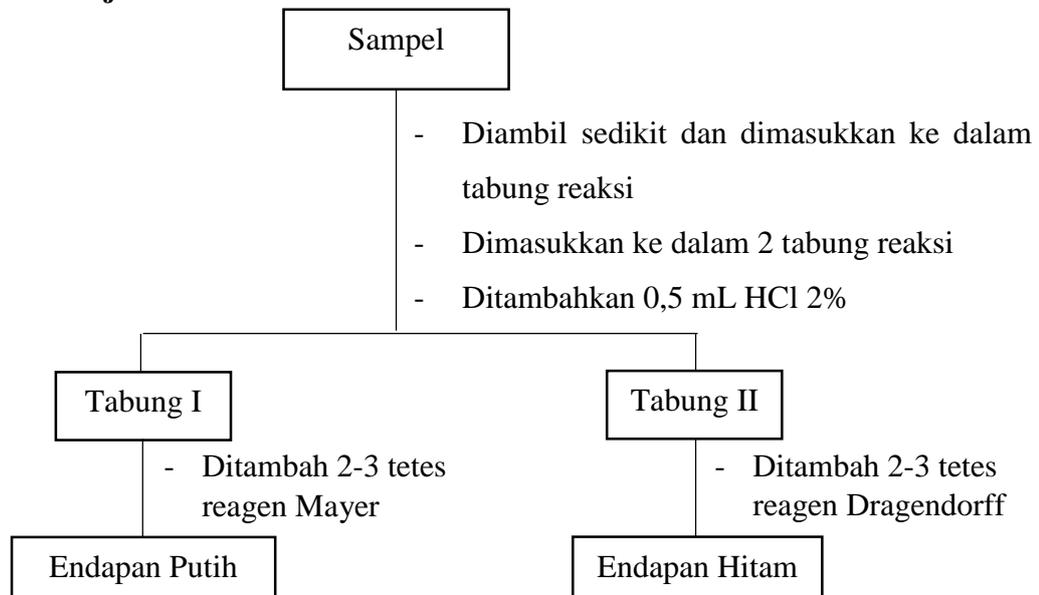


L.2.4 Partisi

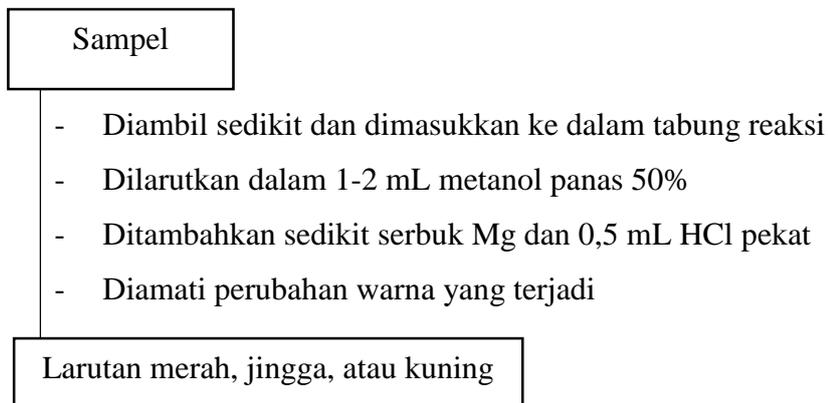


L.2.5 Uji Fitokimia

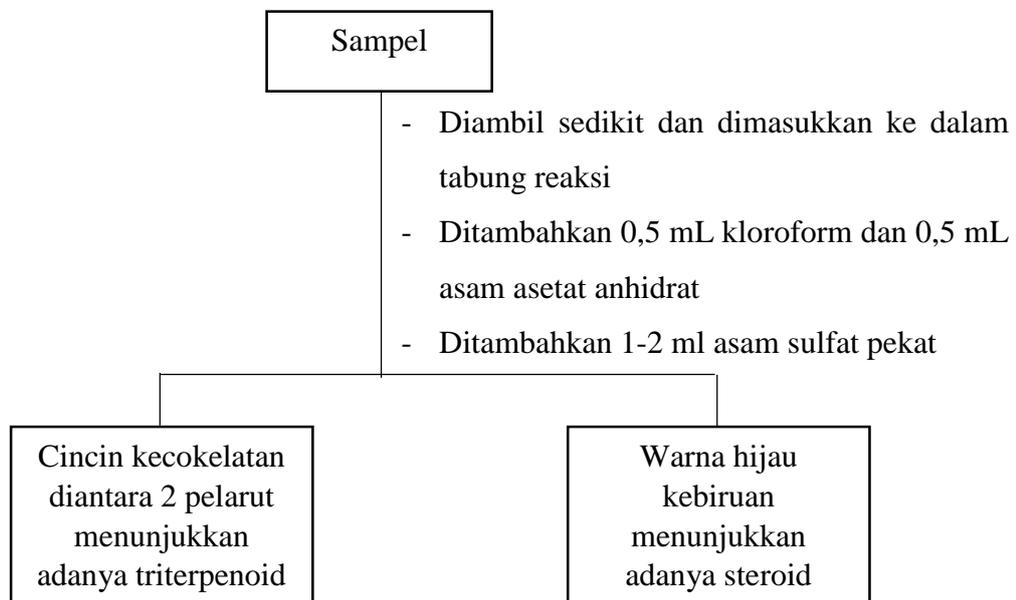
L.2.5.1 Uji Alkaloid



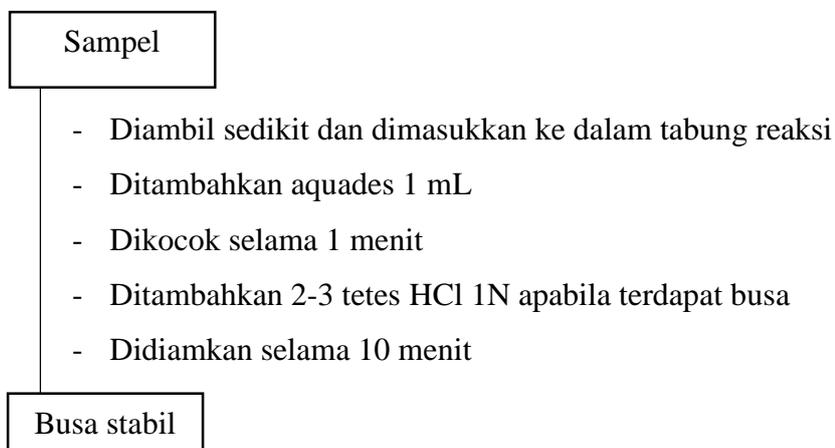
L.2.5.2 Uji Flavonoid



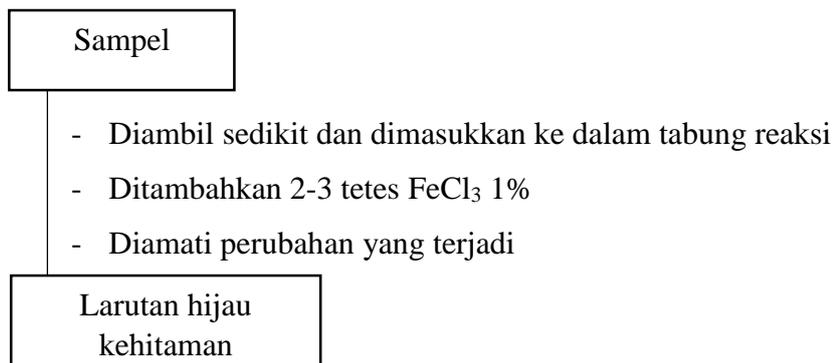
L.2.5.3 Uji Steroid atau Triterpenoid



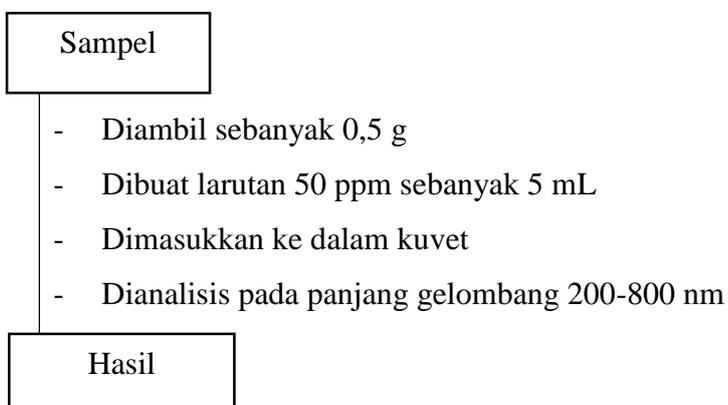
L.2.5.4 Uji Saponin



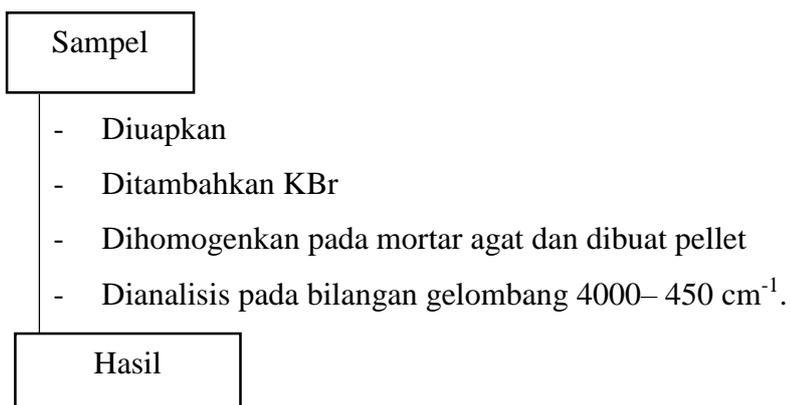
L.2.5.5 Uji Tanin



L.2.6 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



L.2.7 Identifikasi Menggunakan FTIR



L.2.8 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH

L.2.8.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM

- Diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan 3 mL etanol 96% dan ditutup tisu
- Divortex selama 2 menit
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit
- Dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansi pada λ_{maks} yang telah diketahui

Hasil

L.2.8.2 Absorbansi Sampel

Sampel

- Dibuat larutan dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm
- Divortex selama 1 menit
- Diambil 3 mL
- Dimasukkan tabung reaksi tutup
- Ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM
- Divortex selama 2 menit
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit
- Dimasukkan ke dalam kuvet
- Diukur absorbansi pada λ_{maks} yang telah diketahui
- Dilakukan secara triplo
- Dihitung nilai % aktivitas antioksidannya dengan data absorbansi
- Dihitung nilai IC_{50}

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Pembuatan Larutan HCl 2N

Diketahui:

Densitas	= 1,19 g/mL
Konsentrasi	= 37%
Volume	= 50 mL
Mr HCl	= 36,5 g/mol
Molaritas HCl (N ₁)	= n x Molaritas HCl
	= $\frac{1 \times 37\% \times 119}{36,42 \text{ g/mol}}$
	= 12,09 N
N ₂	= 2 N
V ₂	= 20 mL

Ditanya V₁?

Jawab: N₁ V₁ = N₂ V₂

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

$$= \frac{20 \text{ mL} \times 2 \text{ N}}{12,09 \text{ N}}$$

$$= 8,27 \text{ mL}$$

L.3.2 Pembuatan Larutan HCl 2%

Diketahui:

M HCl	= 37%
M larutan	= 2%
V larutan	= 10 mL

Ditanya V₁?

Jawab: M₁ V₁ = M₂ V₂

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1}$$

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

$$= 0,6 \text{ mL}$$

L.3.3 Pembuatan Larutan NaHCO₃ 5%

Sebanyak 5 g Natrium Bikarbonat dilarutkan dengan akuades dalam beaker glass. Kemudian ditandabatkan dan dihomogenkan dalam labu ukur 100 mL.

L.3.4 Pembuatan larutan FeCl₃ 1%

$$\text{FeCl}_3 \text{ 1\%} = \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

Jadi untuk membuat FeCl₃ 1% adalah dengan cara melarutkan 1 g FeCl₃ ke dalam 100 mL akuades

L.3.5 Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 20 mL etanol

$$\begin{aligned}
 \text{Mr DPPH} &= 394,33 \text{ g/mol} \\
 \text{Mol DPPH} &= 20 \text{ mL} \times 0,2 \text{ Mm} \\
 &= 20 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}} \\
 &= 0,004 \text{ mmol} \\
 &= 0,004 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\
 &= 0,004 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\
 &= 1,58 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

L.3.6 Pembuatan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Antioksidan

A. Pembuatan larutan stok 1000 ppm

$$100 \text{ mL ekstrak etanol} = \frac{10 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}} = 1000 \text{ ppm}$$

B. Pembuatan larutan sampel 5 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\
 V_2 &= \frac{10 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

C. Pembuatan larutan sampel 10 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\
 V_2 &= \frac{10 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

D. Pembuatan larutan sampel 15 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\
 V_2 &= \frac{10 \text{ mL} \times 15 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

E. Pembuatan larutan sampel 20 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\
 V_2 &= \frac{10 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

F. Pembuatan larutan sampel 25 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\
 V_2 &= \frac{10 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

L.3.7 Pembuatan Konsentrasi Larutan Kontrol Positif Vitamin C

A. Pembuatan Larutan Stok Vitamin C

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi } 1 \text{ ppm} &= 1 \text{ } \mu\text{g/mL} \\
 20 \text{ ppm} &= \frac{\text{berat } (\mu\text{g/mL})}{50 \text{ mL}}
 \end{aligned}$$

$$\text{Berat Vitamin C} = 50 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm}$$

$$= 1000 \mu\text{g}$$

$$= 1 \text{ mg}$$

Vitamin C ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 50 mL.

B. Pembuatan Larutan Vitamin C Konsentrasi 2 ppm

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$V_2 = \frac{2 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{20 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

Larutan vitamin C dipipet sebanyak 0,5 mL.

C. Pembuatan Larutan Vitamin C Konsentrasi 4 ppm

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$V_2 = \frac{4 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{20 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Larutan vitamin C dipipet sebanyak 1 mL.

D. Pembuatan Larutan Vitamin C Konsentrasi 6 ppm

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$V_2 = \frac{6 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{20 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$$

Larutan vitamin C dipipet sebanyak 1,5 mL.

E. Pembuatan Larutan Vitamin C Konsentrasi 8 ppm

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$V_2 = \frac{8 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{20 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

Larutan vitamin C dipipet sebanyak 2 mL.

F. Pembuatan Larutan Vitamin C Konsentrasi 10 ppm

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

$$V_2 = \frac{10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{20 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}$$

Larutan vitamin C dipipet sebanyak 2,5 mL.