

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE  
DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) PADA DAUN BENALU  
MAHONI (*Dendrophthu sp*)**

**Skripsi**

**Diajukan Oleh**

**Siti Raihan Salsabila B.S**

**NIM. 180208109**

Mahasiswa Fakultas Tarbiyah dan Keguruan  
Program Studi Pendidikan Kimia



**FAKULTAS TARBIYAH DAN KEGURUAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY  
DARUSSALAM-BANDA ACEH  
2022 M/1444 H**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE  
DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) PADA DAUN BENALU  
MAHONI (*Dendronphthu sp*)**

**SKRIPSI**

Diajukan kepada Fakultas Tarbiyah dan Keguruan (FTK)  
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Darussalam Banda Aceh  
Sebagai Beban Studi untuk Memperoleh Gelar Sarjana  
Dalam Ilmu Pendidikan Kimia

Oleh

**SITI RAIHAN SALSABILA BS**

NIM. 180208109

Mahasiswa Fakultas Tarbiyah dan Keguruan  
Prodi Pendidikan Kimia

Disetujui Oleh:

جامعة الرانيري

A R - R A N I R Y

Pembimbing I



Nurmalahayati, M.Si., Ph. D  
NIP. 197606032008012018

Pembimbing II



Muhammad Reza, M. Si  
NIP. 199402122020121015

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE  
DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) PADA DAUN BENALU  
MAHONI (*Dendronphthu sp*)**

**SKRIPSI**

Telah Diuji oleh Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi  
Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Ar-Raniry dan Dinyatakan Lulus  
Serta Diterima Salah Satu Beban Studi Program Sarjana (S-1)  
Dalam Ilmu Pendidikan Kimia

Pada hari/tanggal: Jum'at, 23 Desember 2022  
29 Jumadil Awal 1444

Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi

Ketua,

Sekretaris,



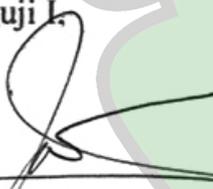
Nurmalahayati, M. Si., Ph. D  
NIP. 197606032008012018



Muhammad Reza, M. Si  
NIP. 1994021220220121015

Penguji I.

Penguji II.



Dr. Mujakir, M.Pd.Si  
NIP.197703052003121004



Haris Munandar, S.Pd.I., M.Pd.  
NIDN.1316038901

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Ar-Raniry  
Darussalam Banda Aceh



Prof. Saiful Mujakir, Ag. M.A., M.Ed., Ph.D  
MP.1975010219997031003

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Raihan Salsabila B.S  
NIM : 180208109  
Prodi : Pendidikan Kimia  
Fakultas : Tarbiyah dan Keguruan  
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH  
(2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Pada Daun Benalu Mahoni  
(*Dendrophthu Sp*)

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penulisan skripsi ini, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggungjawabkan;
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain;
3. Tidak menggunakan karya orang lain tanpa menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya;
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data;
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung jawab atas karya ini.

Bila di kemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya, dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggungjawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi aturan yang berlaku di Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 31 Desember 2022  
Yang menyatakan



Siti Raihan Salsabila B.S

## ABSTRAK

Nama : Siti Raihan Salsabila B.S  
NIM : 180208109  
Fakultas/Prodi : Tarbiyah dan Keguruan / Pendidikan Kimia  
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH  
(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) pada Daun Benalu Mahoni  
(*Dendrophthu sp*)  
Tanggal Sidang : 23 Desember 2022 / 29 Jumadil Akhir 1444  
Tebal Skripsi : 88 Halaman  
Pembimbing I : Nurmalahayati, M.Si., Ph.D.  
Pembimbing II : Muhammad Reza, M.Si.  
Kata Kunci : Radikal bebas, Antioksidan, Daun benalu mahoni

Penggunaan antioksidan sintesis seperti butil hidroksianisol (BHA) menimbulkan efek samping yang bersifat karsinogenik (pemicu kanker) karena dapat menyebabkan kerusakan alveolus tipe I dan kerusakan gen endothelial paru-paru. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun benalu mahoni (*Dendrophthu sp*) melalui metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl). Ekstrak daun benalu mahoni didapatkan dari hasil maserasi secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol. Adapun uji yang dilakukan yaitu skrining fitokimia, uji kromatografis lapis tipis, uji aktivitas antioksidan menggunakan Spektrofotometer Visible Genesys-30, dan pengukuran nilai  $IC_{50}$ . Dari skrining fitokimia diketahui bahwa sampel mengandung empat jenis senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tannin, saponin, dan steroid. Hal ini dikuatkan kembali dengan uji kromatografis lapis tipis dimana terdapat 4 noda yang terpisah secara baik menggunakan eluen n-heksana dan etil asetat (5:5) yang teridentifikasi nilai  $R_f$  nya sebagai nilai dari keempat metabolit sekunder di atas. Berdasarkan semua data eksperimen yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa daun benalu mahoni memiliki aktivitas antioksidan yang baik dengan nilai  $IC_{50}$  sebanyak 8,47 ppm.

A R - R A N I R Y

## KATA PENGANTAR

Puji beserta syukur penulis panjatkan atas kehadirat Allah SWT, yang karena atas karunia dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan baik. Shalawat dan salam tak lupa pula tercurahkan kepada baginda Rasulullah SAW, yang telah membawa umat manusia dari alam jahiliyah kepada alam islamiyah. Skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) pada Daun Benalu Mahoni** ditulis sebagai syarat untuk mendapatkan gelar Strata-1.

Dalam kesempatan ini penulis sampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Safrul Muluk, S.Ag., MA., M.Ed., Ph.D. selaku dekan Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, wakil dekan Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Ar-Raniry yang telah memberi izin penulis untuk melakukan penelitian.
2. Bapak Dr. Mujakir, M.Pd.Si. selaku ketua Program Studi Pendidikan Kimia beserta Ibu Sabarni, M.Pd sebagai sekretaris Program Studi Pendidikan Kimia beserta seluruh stafnya.
3. Ibu Nurmalahayati, M.Si., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan, semangat, nasehat dan bimbingan selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Bapak Muhammad Reza, M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan arahan, semangat, nasehat serta bimbingannya selama penelitian dan penulisan skripsi ini.

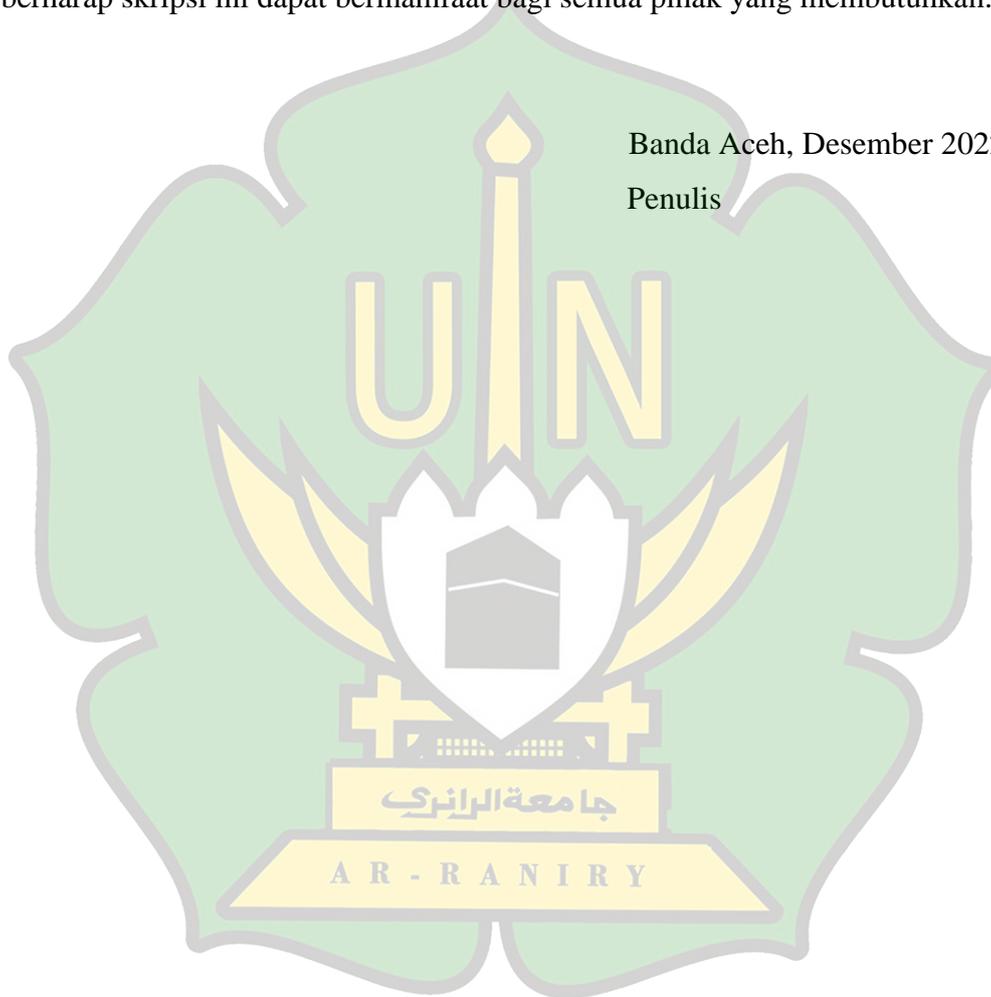
5. Bapak Dr. Mujakir, M.Pd.Si. selaku Dosen Penguji I yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Bapak Haris Munandar, S.Pd.I., M.Pd selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
7. Bapak Safrijal, M.Pd selaku dosen Prodi Pendidikan Kimia yang telah banyak membantu dalam segala bentuk urusan perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini.
8. Bapak dan Ibu dosen Prodi Pendidikan Kimia yang telah memberikan ilmu dan pengalaman selama dalam perkuliahan.
9. Ayahanda Drs. Bussairi D. Nyak Diwa dan Ibunda Sri Helma Rizqy yang telah memberikan do'a terbaik, perhatian, nasihat serta dukungan baik moril maupun materil dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Abang dan kakak tercinta, Al-Ashrawi B.S dan Siti Rahmatillah Maulida B.S serta adik-adik tersayang, Al-'Aqadi Muharrir B.S, Siti Rafniati Nurwasliah B.S dan Al Askari Safara B.S.
11. Dewan Pengurus Harian Himpunan Mahasiswa Pendidikan Kimia, saudara Noer Chaliq dan Iko Rafinda beserta saudari Wilda Khumsa yang tak bosan-bosannya memberikan semangat dan bantuan dalam melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini.
12. Teman berbagi segala keluh dan rasa, Ungsi Arista dan Md. Nadim Ansari yang telah selalu ada dalam setiap keadaan yang dibutuhkan.

13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulisan skripsi selama ini.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat diharapkan demi hasil yang lebih baik. Penulis berharap skripsi ini dapat bermamfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Banda Aceh, Desember 2022

Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUT JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING	
LEMBAR PENGESAHAN SIDANG	
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	
ABSTRAK.....	i
KATA PENGANTAR .....	ii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Ruang Lingkup Penelitian.....	5
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tanaman Mahoni .....	7
2.1.1 Taksonomi Tanaman Mahoni.....	7
2.1.2 Morfologi .....	7
2.1.3 Kandungan .....	8
2.1.4 Tumbuhan Parasit pada Pohon Mahoni .....	19
2.2 Metode Ekstraksi Maserasi Bertingkat .....	19
2.3 Metode Pengeringan Udara ( <i>Air-drying</i> ).....	20
2.4 Fraksinasi .....	20
2.5 Skrining Fitokimia .....	21
2.6 Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	23
2.7 Metode Identifikasi Spektrofotometer Visibel Genesis-30.....	25
2.8 Radikal Bebas .....	26
2.9 Antioksidan .....	28
2.10 Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan DPPH (2,2 <i>diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> ).....	31
2.11 Vitamin C sebagai Pembanding .....	32

BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	34
3.1  Garis Besar Penelitian.....	34
3.2  Alat dan Bahan.....	34
1.  Alat.....	34
2.  Bahan .....	34
3.3  Diagram Alir .....	35
3.4  Waktu dan Tempat.....	37
3.5  Prosedur Penelitian .....	37
3.4.1  Pengolahan sampel.....	37
3.4.2  Ekstraksi Sampel.....	37
3.4.3  Fraksinasi Ekstrak Etanol.....	38
3.4.4  Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder.....	39
3.4.5  Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	40
3.4.6  Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Benalu Mahoni ....	40
3.4.7  Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH....	41
3.6  Pengukuran Nilai IC <sub>50</sub> .....	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	44
4.1  Penyiapan Bahan.....	44
4.2  Pembuatan Ekstrak Daun Benalu Mahoni .....	45
4.3  Fraksinasi Ekstrak Daun Benalu Mahoni.....	47
4.4  Skrining Fitokimia .....	49
4.5  Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	53
4.6  Pengukuran Aktivitas Antioksidan .....	56
a.  Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol.....	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	64
5.1  KESIMPULAN.....	64
5.2  SARAN.....	64
DAFTAR PUSTAKA .....	65

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Flavonoid .....	9
Gambar 2. 2	Struktur Terpenoid .....	16
Gambar 2. 3	Struktur Asam tanat.....	18
Gambar 2. 4	Struktur Saponin .....	19
Gambar 2. 5	Spektrofotometer Visibel Genesys-30 .....	26
Gambar 2. 6	Radikal DPPH dan bentuk stabilnya .....	32
Gambar 2.7	Struktur Vitamin C.....	33
Gambar 3. 1	Diagram alir penelitian pengukuran aktivitas antioksidan daun benalu mahoni menggunakan DPPH .....	36
Gambar 4.1	(a) Daun benalu mahoni segar; (b) Simplisia benalu mahoni .....	45
Gambar 4. 2	(a) Filtrat N-Heksana; (b) Ekstrak pekat; dan (c) Etil asetat Ekstrak Etanol.....	46
Gambar 4.3	Fraksinasi Kromatografi Kolom Cair Esktak Etanol Daun Benalu Mahoni.....	48
Gambar 4.4	Hasil Uji Identifikasi Flavonoid (a) ekstrak n-heksana; (b) ekstrak etil asetat; (c) ekstrak etanol; (d) fraksi n-heksana; (e) fraksi etil asetat; (f) fraksi etanol .....	50
Gambar 4. 5	(a) Ekstrak n-heksana; (b) ekstrak etil asetat; (c) ekstrak etanol; (d) fraksi n-heksana; (e) fraksi etil asetat; (f) fraksi etanol.....	51
Gambar 4. 6	Hasil positif uji senyawa saponin.....	53
Gambar 4. 7	Hasil positif uji senyawa steroid ekstrak etanol.....	53
Gambar 4. 8	Hasil uji kromatografi lapis tipis ekstrak etanol .....	55

Gambar 4. 9 Kurva kalibrasi larutan DPPH.....	56
Gambar 4. 10 Grafik hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni.....	58
Gambar 4.11 Grafik hubungan antara konsentrasi dengan %Inhibisi senyawa radikal DPPH dari ekstrak etanol daun benalu mahoni .....	58
Gambar 4. 12 Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan %Inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 5 ppm .....	60
Gambar 4. 13 Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan %Inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 10 ppm .....	60
Gambar 4. 14 Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan %Inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 15 ppm .....	61
Gambar 4. 15 Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan %Inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 20 ppm .....	61
Gambar 4. 16 Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan %Inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 25 ppm .....	61
Gambar 4. 17 Grafik hubungan antara konsentrasi dengan %inhibisi antioksidan dari Vitamin C .....	63

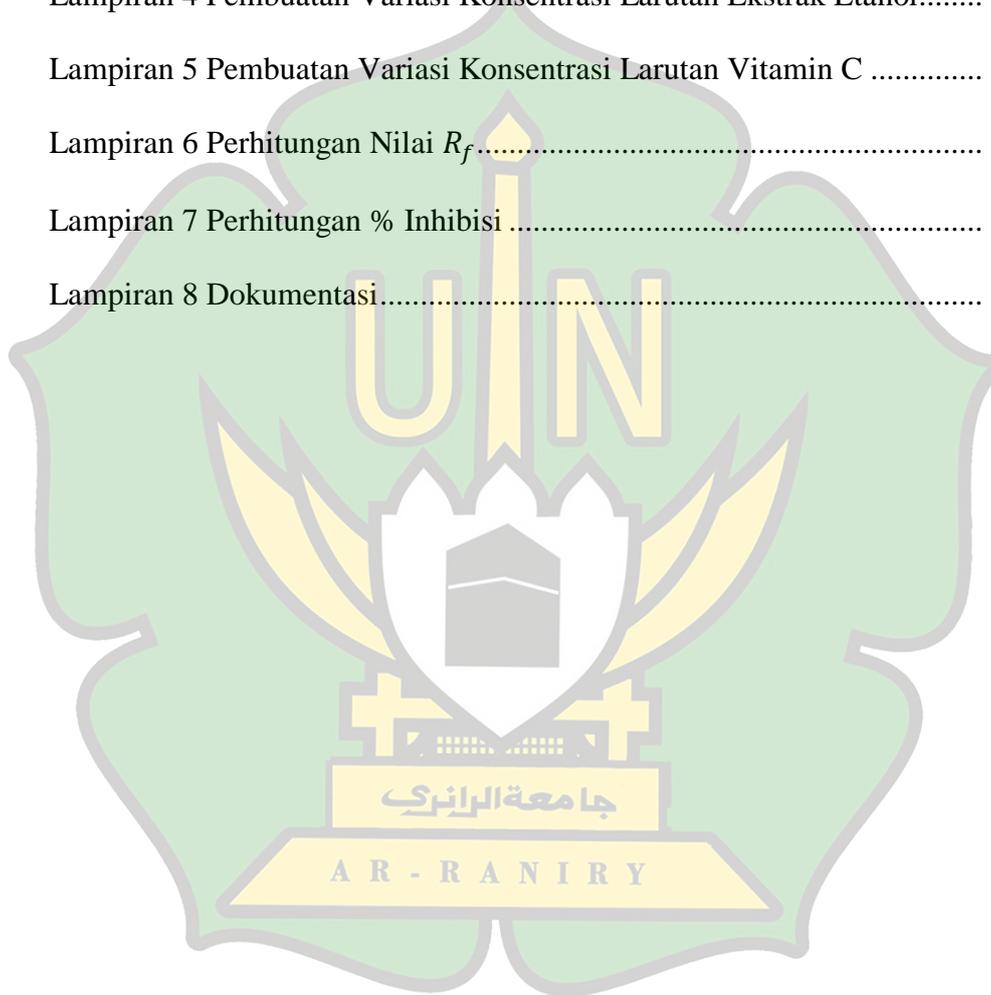
## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Tabel Uji Positif Skrining Fitokimia .....	22
Tabel 4. 1 Data rendemen ekstrak hasil maserasi .....	46
Tabel 4. 2 Hasil Skrining Fitokimia.....	49



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan %Rendemen .....	69
Lampiran 2 Pembuatan Larutan .....	70
Lampiran 3 Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan DPPH.....	72
Lampiran 4 Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Ekstrak Etanol.....	74
Lampiran 5 Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Vitamin C .....	76
Lampiran 6 Perhitungan Nilai $R_f$ .....	78
Lampiran 7 Perhitungan % Inhibisi .....	80
Lampiran 8 Dokumentasi.....	87



# **BAB I PENDAHULUAN**

## **1.1 Latar Belakang Masalah**

Salah satu penyebab penyakit kanker, arteriosklerosis, peradangan, dan penuaan dini adalah spesi-spesi oksigen reaktif seperti hidrogen peroksida, superoksida, radikal hidrosil serta senyawa radikal lainnya. Oksigen reaktif atau senyawa radikal ini dapat mengoksidasi sel-sel dalam tubuh manusia sehingga pertumbuhan sel-sel tersebut akan terganggu, tumbuh secara tidak normal, dan akan menimbulkan penyakit (Yuslianti, 2018). Untuk menangkal terjadinya oksidasi ini maka sangat diperlukan suatu zat yang dapat melindungi sel-sel dari senyawa reaktif yang dinamakan antioksidan (Santoso, 2016).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat, menunda, atau mencegah laju oksidasi atau menetralkan radikal bebas (Santoso, 2016). Menurut konsep kimia, antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron. Antioksidan bekerja dengan cara memberikan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan (mudah teroksidasi) sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan cara mencukupkan kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Yuslianti, 2018). Penggunaan antioksidan sintesis seperti butil hidroksianisol (BHA) menimbulkan efek samping yang bersifat karsinogenik (pemicu kanker) karena dapat menyebabkan kerusakan alveolus tipe I dan kerusakan gen endothelial paru-paru (Karim et al., 2020).

Menurut *World Health Organization* (WHO), sebanyak 80% dari total populasi yang ada di benua Asia dan Afrika bergantung pada alternatif pengobatan tradisional. WHO juga telah mengakui pengobatan tradisional dapat mengobati berbagai jenis penyakit akut, infeksi, dan penyakit kronis (Yuningsih, 2022). Seperti daun jambu biji yang segar dapat digunakan untuk mengobati diare, buah jahe dapat meredakan batuk, dan daun sirih dapat menghentikan darah mimisan (R.Ghozally, 2010).

Indonesia kaya akan berbagai keanekaragaman hayati yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat atau bahan baku obat yang berfungsi sebagai zat antioksidan dan sitotoksitas yang rendah (Tutik et al., 2018). Penelitian sebelumnya telah memanfaatkan tanaman di sekitar hutan Tabo-tabo Sulawesi Selatan sebagai obat tradisional. Bagian tanaman berupa daun yang paling banyak dimanfaatkan, yaitu 23 jenis (56,09 %) menyusul bagian tanaman berupa buah (29,26 %), dan paling rendah pemanfaatan getah yakni hanya satu jenis (2,43 %) (Rafii, 2017). Penelitian lainnya juga ada yang memanfaatkan daun benalu seperti daun benalu teh (*Scurrula oortina*), benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dan daun benalu nangka (*Mascrosolencochinchinensis*) sebagai obat untuk mengatasi penyakit kanker (Redaksi Trubus, 2021).

Benalu merupakan tumbuhan parasit karena dapat menyerang tanaman budidaya maupun tumbuhan liar. Bioaktivitas benalu bergantung pada tanaman inangnya (Pratiwi Putri et al., 2021). Benalu adalah salah satu kelompok tumbuhan parasit yang termasuk ke dalam suku *Loranthaceae*. Beberapa ahli membagi suku ini menjadi dua subfamili, yaitu *Loranthoideae* dan *Viscoideae*,

tetapi ada juga beberapa penulis yang lain membaginya menjadi dua suku tersendiri, yaitu *Loranthaceae* dan *Viscaceae*. Kelompok ini terdiri atas tidak kurang dari 940 jenis, yang termasuk dalam 70 suku, lebih kurang 600 jenis diantaranya merupakan anggota marga *Loranthus* (Pratiwi Putri et al., 2021).

Benalu dianggap sebagai tanaman yang merusak pada tanaman hortikultural yang penting secara ekonomi. Namun di sisi lain benalu dikenal sebagai salah satu tanaman obat yang digunakan dalam pengobatan tradisional/alternatif di Indonesia dan negara lain seperti dalam pengobatan batuk, diabetes hipertensi, kanker, dan diuretik (Endharti et al., 2016).

Banyak peneliti terdahulu yang telah melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan daun benalu, diantaranya penelitian terkait aktivitas antioksidan yang terdapat pada daun benalu kopi di Bener Meriah yang menunjukkan bahwa ekstrak daun benalu kopi mempunyai tingkat antioksidan yang tergolong tinggi dikarenakan memiliki nilai  $IC_{50}$  sebanyak 6,063 ppm (Yulian et al., 2018). Siti Chopipah (2021) juga melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan senyawa flavonoid pada daun benalu, katuk, johar, dan kajajahi. Dari keempat jenis daun tersebut ia menemukan bahwa daun benalu memiliki nilai antioksidan yang paling tinggi yaitu 30,31 ppm (Chopipah et al., 2021).

Tanaman mahoni sering ditemukan di pinggir jalan raya sebagai pelindung jalan yang banyak ditumbuhi daun benalu. Daun benalu mahoni merupakan jenis *Dendrophthu Sp.* Menurut penelusuran peneliti, belum ada penelitian yang mengarah pada uji aktivitas antioksidan pada daun benalu mahoni. Sedangkan

untuk bagian tanaman mahoni lainnya, Ratih Setianingrum (2012) telah mengkaji senyawa metabolit yang terdapat pada biji mahoni. Ia menyimpulkan bahwa biji mahoni mampu menurunkan kadar MDA (*malondialdehyde*) pada darah (Setianingrum, 2012). Buah mahoni pula dapat digunakan sebagai obat malaria, penambah nafsu makan, dan lain-lain. Kulit tanaman mahoni juga memiliki manfaat dipergunakan untuk mewarnai pakaian, sedangkan getah mahoni yang disebut blendok digunakan sebagai bahan baku pembuatan lem (perekat), dan daun mahoni untuk pakan ternak (Setianingrum, 2012).

Buah mahoni mengandung saponin, flavonoid, dan alkaloid (Arief Hariana, 2013). Flavonoid termasuk senyawa polifenol yang telah banyak ditemukan di alam. Flavonoid menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Setianingrum, 2012). Sebagaimana yang diketahui, benalu hidup pada tumbuhan inangnya sebagai parasit. Benalu mengambil segala zat sumber makanan dari tumbuhan inangnya. Tanaman inang yang mengandung antioksidan tinggi akan diserap oleh benalu sehingga ia pun memilikinya (Redaksi Trubus, 2019). Maka oleh karena itu ada kemungkinan bahwa daun benalu mahoni juga mengandung senyawa flavonoid yang dapat menjadi antioksidan untuk melawan radikal bebas.

Sehubungan dengan latar belakang masalah di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl*) pada daun benalu mahoni (*Dendrophthu sp*).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimanakah aktivitas antioksidan kandungan dalam daun benalu mahoni (*Dendrophthu sp*) dengan menggunakan metode DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun benalu mahoni (*Dendrophthu sp*) melalui metode DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

## 1.4 Ruang Lingkup Penelitian

Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai zat antioksidan penangkal radikal bebas pada sampel daun benalu mahoni, dilakukan perendaman dengan metode maserasi selama 9 hari dengan tiga jenis pelarut yang berbeda. Pelarut yang digunakan berturut-turut dari non-polar ke polar yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol. Hasil ketiga filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel. Kemudian dilakukan uji kromatografi lapis tipis untuk memastikan jumlah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun benalu mahoni. Selanjutnya sampel ekstrak daun benalu mahoni diukur aktivitas

antioksidannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dan ditentukan nilai

IC<sub>50</sub>.



## BAB II KAJIAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Mahoni

#### 2.1.1 Taksonomi Tanaman Mahoni

Kedudukan tanaman mahoni dalam taksonomi tumbuhan sebagai berikut (Pitojo, 2019).

Regnum : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Kelas : Angiospermae  
Sub kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Rurales  
Famili : Meliaceae  
Genus : Swietenia  
Spesies : *Swietenia mahagoni* Jacq.

#### 2.1.2 Morfologi

Mahoni merupakan tumbuhan tropis dari famili *Meliaceae* yang berasal dari Hindia Barat. Pohon mahoni dapat dilihat tumbuh secara alami sebagai pohon peneduh di pantai, di hutan jati, dan di jalan-jalan kota. Tanaman ini dapat tumbuh dengan menggunakan biji, cangkokan, atau okulasi. Pupuk dan pestisida kimia anorganik tidak diperbolehkan untuk diterapkan pada tanaman mahoni yang ditujukan untuk penggunaan medis. Buah dari pohon mahoni memiliki rasa yang dingin dan pahit (Yasjudani, 2017).

Mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) dapat tumbuh subur di ruang terbuka yang mendapat sinar matahari langsung pada ketinggian 1.000 mdpl, baik di

dataran tinggi maupun dataran rendah. Pohon mahoni tumbuh dengan cepat; pada usia 7 hingga 15 tahun, mereka cukup besar untuk dipanen kayunya. (Yasjudani, 2017).

Tanaman mahoni dapat tumbuh setinggi 40 meter dengan diameter batang mencapai 100 cm. Tanaman ini berakar tunggang, berbatang bulat, percabangan banyak dan kayunya bergetah. Daunnya majemuk, menyirip genap, tepi rata, helaian daun berbentuk bulat telur, ujung dan pangkalnya runcing, tulang daunnya menyirip, dan bertangkai. Buahnya berwarna coklat, gemuk, dan berbentuk lonjong, dengan lima alur. Bijinya pipih berwarna coklat tua dengan sayap sempit dan ujung yang relatif tebal terdapat di dalam buah (Pitojo, 2019).

### **2.1.3 Kandungan**

Flavonoid, terpenoid, dan tanin adalah senyawa kimia yang terdapat pada daun mahoni (*Swietenia mahagoni* L.). Kehadiran terpenoid dan flavonoid merupakan komponen utama bahan yang menunjukkan aksi antibakteri yang baik (Ayyappadhas R et al., 2012). Dalam buah mahoni pula terdapat senyawa flavonoid dan saponin (Pitojo, 2019).

#### **2.1.3.1 Flavonoid**

Setiap ekstrak tumbuhan mengandung flavonoid, yang merupakan metabolit sekunder dari polifenol dan terdapat pada semua tumbuhan hijau. Senyawa ini memiliki berbagai sifat farmakologis, termasuk antivirus, antiinflamasi, kardioprotektif, antidiabetes, antikanker, antipenuaan, dan antioksidan. Kerangka karbon senyawa flavonoid, yang memiliki 15 atom karbon dan tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, terdiri dari dua gugus C<sub>6</sub> (cincin

benzena tersubstitusi) yang dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin et al., 2018).

### **Gambar 2.1 Struktur Flavonoid**

Kelas zat yang dikenal sebagai flavonoid banyak ditemukan di alam. Karena berbagai jumlah hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi hadir dalam susunan strukturalnya, molekul flavonoid ini melimpah (Juliato, 2019).

Antosianin, flavonol, dan flavon adalah di antara lebih dari 2.000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan yang telah ditemukan sejauh ini (Juliato, 2019). Jumlah flavonoid yang dibutuhkan berkisar dari 20 mg hingga 500 mg, dan terutama terdapat dalam suplemen makanan seperti teh, jeruk bali merah, apel, bawang merah, dan tomat. Tumbuhan termasuk flavonoid, yang membantu menghasilkan warna merah, kuning, oranye, biru, dan ungu yang ditemukan pada buah, bunga, dan daun. Keluarga polifenol yang larut dalam air termasuk flavonoid (Arifin et al., 2018).

Meskipun tempat produksinya berada di luar vakuola, flavonoid terutama berkumpul di vakuola sel tumbuhan. Molekul flavonoid berasal dari kombinasi dua proses biokimia, terutama jalur asam asetat mevalonat dan jalur asam shikimat, sebagaimana dipertimbangkan dari perspektif jalur metabolisme (Juliato, 2019).

Berdasarkan strukturnya, flavonoid dapat dikelompokkan sebagai berikut

(Juliato, 2019):

Nomor	Nama Senyawa	Struktur
1.	Kalkon	
2.	Flavon	
3.	Flavonol	
4.	Flavanon	

5.	Antosianin	
6.	Isoflavon	

#### 1) Kalkon

Kalkon merupakan flavonoid yang biasa ditemukan pada buah dan sayuran. Kalkon lazim disebut flavonoid dengan rantai terbuka karena tidak memiliki cincin C. Contoh senyawa kalkon yaitu arbutin, floretin, dan kalkonarigenin. Sumber tanaman yang menghasilkan senyawa kalkon yaitu tomat, pir, dan stroberi (Amin, 2021).

Kalkon adalah senyawa antoklor, yaitu pigmen kuning yang dapat dideteksi dengan cara diasapi dengan asap basa dari sebatang cerutu, atau diuapi dengan uap ammonia. Bila daun bunga berwarna kuning maka warnanya akan berubah menjadi jingga atau merah yang menandakan terdapat senyawa kalkon (Harbone, 1987).

## 2) Flavon

Senyawa flavon sering ditemukan dalam ikatan C-glikosidik (Suparno, 2019). Flavon adalah jenis flavonoid dengan struktur ikatan rangkap antara posisi 2' dan 3', serta memiliki gugus keton pada posisi 4. Senyawa flavon diantaranya adalah luteolin, apigenin, dan baicalein. Flavon terbesar dihasilkan dari bagian tanaman daun, buah, dan bunga dalam bentuk glikosida. Adapun contoh tanaman penghasil flavon yaitu daun mint, seledri, dan ginkgo biloba (Amin, 2021).

Flavon berbeda dengan flavanol karena pada flavon tidak terdapat penyulihan 3-hidroksi. Hal ini mempengaruhi serapan UV-nya, gerakan kromatografinya, serta reaksi warnanya. Hanya ada dua flavon yang umum, yaitu apigenin dan luteolin. Ada juga satu jenis flavon yang lain namun jarang sekali didapat yaitu trisetin (Harbone, 1987)

Flavon terdapat juga sebagai glikosida tetap jenis glikosidanya lebih sedikit daripada jenis glikosida pada flavanol. Jenis glikosida flavon yang paling terkenal adalah 7-glukosida, contohnya luteolin 7-glukosida. Flavon terdapat pula jenis glikosida yang gugus gulanya terikat melalui ikatan karbon-karbon. Ikatan ini sangat tahan terhadap hidrolisis asam sehingga membedakan C-glikosida dengan O-glikosida pada flavon sangatlah mudah (Harbone, 1987).

## 3) Flavonol

Dalam tumbuhan terdapat banyak sekali glikosida flavonol, baik sebagai kopigmen antosianin dalam daun bunga maupun dalam daun tumbuhan tinggi. Aglikon flavonol telah dikenal dua hingga tiga ratus jenis, namun yang umum hanya tiga saja yaitu kemferol (pola hidroksilasi serupa dengan antosianidin dan

pelargonidin), kuersetin (bandingkan dengan sianidin), dan mirisetin (bandingkan dengan delphinidin). Ketiga flavonol ini dapat dipisahkan dengan jelas secara kromatografi kertas sederhana (Harbone, 1987).

Flavonoid memiliki gugus keton pada strukturnya. Sedangkan gugus aromatik yang bertanggung jawab memberikan aktivitas biologi adalah terdapat pada gugus B. Senyawa flavanol terdapat pada tanaman tomat, bawang, apel, dan anggur. Contoh senyawa flavanol adalah kaemferol, galaton, kuersetin, dan mirisetin (Amin, 2021).

Kemferol dan kuersetin adalah dua jenis senyawa flavanol yang terdapat pada seluruh jenis tumbuhan angiospermae, sedangkan mirisetin hanya terdapat pada daun-daun tumbuhan berkayu yang sering mengandung tannin (Suparno, 2019).

Ada seratus jenis glikosida kuersetin yang dikenal, namun yang paling umum adalah kuersetin 3-rutinosida atau diketahui sebagai rutin yang sangat bermanfaat dalam bidang farmasi karena digunakan untuk mengobati kerapuhan pembuluh kapiler pada manusia (Harbone, 1987).

#### 4) Flavanon

Flavanon adalah isomer kalkon dan kedua kelas senyawa ini berantarah-bentuk secara *in vitro*. Kalkon sering kali dijumpai di alam bersama-sama dengan analog flavanon, tetapi belum tentu flavanon ditemukan kebanyakan bersama kalkon. Misalnya, flavanon bertumpuk banyak dalam buah citrus tanpa disertai kalkon. Beberapa flavanon mempunyai rasa yang penting, seperti naringin jeruk Seville, citrus aurantium, memiliki rasa yang sangat pahit (Harbone, 1987).

Senyawa *naringenin*, *pinocebrin*, dan *naringin* adalah contoh dari senyawa flavonoid jenis flavanon. Senyawa ini kebanyakan ditemukan pada tanaman lemon dan juga jeruk. Flavanon memiliki ikatan rangkap di antara posisi 2 dan 3 serta memiliki cincin C yang saturasi (Amin, 2021).

Flavanon (dihidroflavon) tersebar di alam dalam jumlah terbatas. Senyawa ini adalah tidak berwarna atau sedikit kuning (Kristanti, 2019).

#### 5) Antosianin

Antosianin adalah glikosa antosianidin. Ada tiga macam antosianidin yaitu yang berwarna merah padam (scarlet) pelargonidin, merah tua (crimson) sianidin, dan lembayung muda (mauve) delphinidin atau ester metilnya yang sederhana terjadi secara luas dalam bunga-bunga dan buah berwarna (Suparno, 2019).

Pigmen yang memberi warna pada tumbuhan adalah hasil dari peran senyawa antosianin. Senyawa ini sering ditemukan pada kakao, madu, kacang-kacangan dan teh. Contoh senyawanya adalah *malvidin*, *cyaniding*, dan *delphinidin* (Amin, 2021).

Secara kimia semua antosianin merupakan turunan suatu struktur aromatic tunggal, yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin ini dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil atau dengan metilasi atau glikosilasi (Harbone, 1987).

Terdapat enam antosianidin yang umum. Antosianidin ialah aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam. Antosianin yang paling umum sampai saat ini adalah sianidin yang berwarna merah lembayung. Warna jingga disebabkan oleh pelagornidin yang gugus hidroksilnya

kurang satu dibandingkan sianidin. Sedangkan warna merah senduduk, lembayung, dan biru umumnya disebabkan oleh delphinidin yang gugus hidroksilnya lebih satu dibandingkan sianidin. Tiga jenis eter metal antosianidin juga sangat umum, yaitu peonidin yang merupakan turunan sianidin; serta petunidin dan malvidin yang terbentuk dari delphinidin. Masing-masing antosianidin tersebut terdapat sebagai sederetan glikosida (yaitu sebagai antosianin) dengan berbagai gula yang terikat. Keragaman utama adalah sifat gulanya (sering kali glukosa, tetapi mungkin mungkin juga galaktosa, ramnosa, xilosa, atau arabinosa), jumlah satuan gula (mono-, di-, atau triglikosida), dan letak ikatan gula (biasanya pada 3-hidroksi atau pada 3- dan 5-hidroksi (Harbone, 1987).

Antosianin pada  $\text{pH} < 2$  berada dalam bentuk kation (ion flavilium), tetapi pada  $\text{pH}$  yang sedikit asam, bentuk kuinonoid yang terbentuk. Bentuk ini dioksidasi dengan cepat oleh udara dan rusak, oleh karena itu pengerjaan terhadap antosianin aman dilakukan dalam larutan asam (Kristanti, 2019).

#### 6) Isoflavon

Struktur isoflavon hampir mirip dengan senyawa flavon. Hal ini dikarenakan isoflavon memiliki dua cincin benzene yang terikat pada cincin piran heterosiklik, tetapi orientasi dari cincin benzene B nya berbeda. Adapun senyawa isoflavon yaitu genistein, genistin, dan daidzenin (Amin, 2021).

Isoflavon memiliki sebaran taksonomik agak terbatas yang umumnya terdapat dalam Leguminosae. Isoflavon dibiosintesis melalui precursor kalkona

dan migrasi cincin telah dipostulatkan sebagai suatu oksidasi senyawa antara (*intermediate*) flavanon membentuk isoflavonoid (Suparno, 2019).

Diantara mamfaat senyawa isoflavon adalah insektisida alam yang kuat dan senyawa pelindung yang terbentuk dalam tumbuhan sebagai taggapan terhadap serangan penyakit (Harbone, 1987).

### 2.1.3.2 Terpenoid

Senyawa terpenoid merupakan kelompok senyawa organik hidrokarbon yang melimpah yang dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Kebanyakan terpenoid adalah cairan tidak berwarna dan tidak berbau dengan berat jenis lebih rendah dari air, dan mereka dengan cepat menguap dengan adanya uap air panas, di antara ciri-ciri terpenoid lainnya. Senyawa terpenoid memiliki struktur alil siklik, dengan beberapa di antaranya merupakan senyawa tak jenuh yang memiliki satu atau lebih ikatan rangkap (Julianto, 2019). Berikut adalah struktur dari senyawa terpenoid.



**Gambar 2. 2** Struktur Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa utama penyusun fraksi minyak atsiri dalam tanaman. Senyawa terpenoid terdiri dari monoterpenoid, sesquiterpenoid, diterpenoid, dan triterpenoid. Senyawa monoterpenoid dari golongan terpenoid umumnya bersifat volatile yang dapat memberikan aroma yang khas pada tanaman (Sari, 2021).

Salah satu tanaman yang mengandung senyawa terpenoid adalah tanaman lada. Lada mengandung senyawa terpenoid sekitar 1-4% dan digunakan sebagai insektisida terhadap ngengat. Daya inteksidal yang terdapat dalam buah lada cukup efektif untuk melindungi produk pertanian misalnya digunakan sebagai *feeding deterrent* terhadap hama gudang (Sari, 2021).

#### 2.1.3.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa fenolik dengan rasa pahit, astringen, dan pengkhelat, dapat bereaksi dengan protein atau senyawa organik lainnya membentuk aglomerat yang mengandung asam amino dan alkaloid (Julianto, 2019).

Berbagai jenis tanaman mengandung bahan kimia tanin. Zat-zat ini berfungsi sebagai agen pengatur dalam metabolisme tanaman dan pertahanan tanaman yang vital terhadap herbivora dan hama (Julianto, 2019).

Tanin dikelompokkan menjadi dua bentuk senyawa yaitu (Julianto, 2019):

- 1) Tanin terhidrolisis

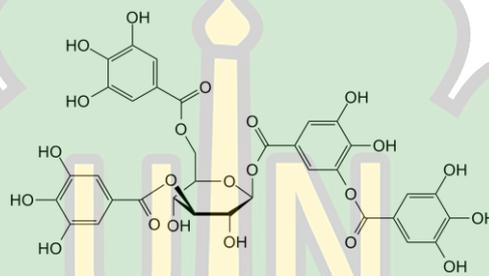
Jenis tanin ini merupakan tanin yang telah didegradasi oleh asam atau enzim menghasilkan asam galat dan asam egalat. Senyawa tanin akan berubah menjadi biru atau hitam jika direaksikan dengan besi klorida.

- 2) Tanin terkondensasi

Bentuk tanin ini, yang sering dihasilkan dari molekul flavonol, tahan terhadap proses hidrolisis. Flavan-3-4-diol dan katekin. Ketika asam atau enzim ditambahkan, zat ini akan terurai menjadi

fobalen. Tanin terkondensasi sering disebut sebagai tanin katekol karena selama proses distilasi mereka berubah menjadi katekol. Dengan menambahkan besi klorida, tanin terkondensasi akan menghasilkan bahan kimia hijau.

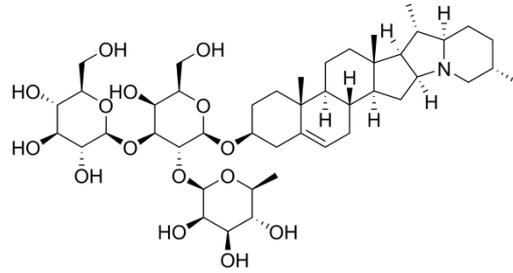
Berikut adalah salah satu contoh struktur tannin terhidrolisis yaitu asam tanat.



**Gambar 2. 3** Struktur Asam tanat

#### 2.1.3.4 Saponin

Glikosida yang disebut saponin terdiri dari glikon dan aglikosida. Sapogenin adalah bentuk aglikon dari bahan kimia saponin. Kelompok gula termasuk glukosa, fruktosa, dan bentuk gula lainnya membentuk bagian glikon dari senyawa saponin. Karena saponin mengandung bahan kimia sabun yang dapat mengganggu ikatan hidrogen dalam air, yang menyebabkan terbentuknya busa di permukaan air setelah dikocok, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air (Nurzaman et al., 2018). Berikut adalah struktur dari saponin.



**Gambar 2. 4** Struktur Saponin

Adapun fungsi saponin adalah menghambat pertumbuhan bakteri patogen, menghambat fungsi membrane sel bakteri dengan merusak permeabilitas membrane sel, dan mengakibatkan lisis dinding sel bakteri (Yuslianti, 2018).

#### **2.1.4 Tumbuhan Parasit pada Pohon Mahoni**

Tumbuhan parasit yang sering terdapat pada tanaman mahoni yaitu benalu jenis *Dendrophthu* sp. Tumbuhan parasit tersebut terkadang terdapat pada rantingtanaman mahoni yang terbuka. Serangan benalu tidak merugikan tanaman mahoni (Pitojo, 2019).

#### **2.2 Metode Ekstraksi Maserasi Bertingkat**

Sampel direndam dalam pelarut organik pada suhu kamar selama prosedur maserasi. Prosedur ini menguntungkan karena perendaman untuk jumlah waktu yang telah ditentukan akan melarutkan dinding dan membran sel, memungkinkan metabolit keluar. Maserasi adalah prosedur langsung yang melibatkan memasukkan bubuk simplisia ke dalam pelarut. Bahan aktif akan larut akibat pelarut masuk ke dalam rongga sel melalui dinding sel dan menembusnya. Larutan pekat dikeluarkan dari sel karena larutan bahan aktif di sana memiliki konsentrasi yang berbeda (Khunaif, 2010). Maserasi bertingkat adalah proses

pengekstrakan yang bertujuan mengekstrak keseluruhan senyawa dalam sampel daun benalu mahoni berdasarkan polaritas pelarut yang digunakan bertahap (Widyasanti et al., 2019).

### **2.3 Metode Pengeringan Udara (*Air-drying*)**

Tergantung pada jenis sampel yang dikeringkan, pengeringan dengan udara dapat memakan waktu mulai dari tiga hingga tujuh hari hingga berbulan-bulan atau bahkan hanya satu unit (misalnya daun atau biji). Untuk memaparkan tanaman ke udara pada suhu kamar, sampel tanaman, biasanya daun tanaman dengan batang yang dihubungkan bersama, digantung. Bahan tanaman tidak dipaksa kering menggunakan suhu tinggi dalam prosedur pengeringan ini. Akibatnya, dimungkinkan untuk mempertahankan kualitas senyawa yang tidak tahan panas. Tetapi pengeringan udara lebih lambat daripada pengeringan microwave dan pengeringan beku, dan dapat terkontaminasi ketika suhu bervariasi (Julianto, 2019).

### **2.4 Fraksinasi**

Menggunakan proses yang disebut fraksinasi, satu kelompok utama zat dipisahkan dari elemen kunci lainnya berdasarkan seberapa larutnya zat. Sifat simplisia menentukan berapa banyak dan jenis senyawa apa yang dapat dibagi menjadi berbagai fraksi. Bahan kimia polar akan larut dalam pelarut polar, senyawa non polar juga akan larut dalam pelarut non polar, dan senyawa semi polar akan larut dalam pelarut semi polar (K.R. Markham, 1988).

## 2.5 Skrining Fitokimia

Uji pendahuluan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan yang memiliki aktivitas biologis adalah skrining fitokimia (Kristanti, 2019).

### 3.2.1 Uji Flavonoid

Senyawa flavonoid dapat diidentifikasi dengan cara mereaksikan ekstrak sampel dengan potongan pita kecil magnesium dan larutan asam klorida pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan berubahnya larutan menjadi warna merah tua (Julianto, 2019).

### 3.2.2 Uji Alkaloid

Keberadaan senyawa alkaloid pada ekstrak tanaman dapat diuji dengan tiga yaitu uji mayer, uji wagner, dan uji hager. Uji mayer dilakukan dengan cara menambahkan setetes atau dua tetes reagen mayer pada filtrat. Timbulnya warna putih pada ekstrak sampel menandakan adanya senyawa alkaloid. Sedangkan pada uji wagner ditandai dengan munculnya warna coklat kemerahan setelah ditambahkan reagen wagner dan ekstrak sampel positif mengandung alkaloid apabila berubah menjadi warna kuning setelah direaksikan dengan reagen hager (Julianto, 2019).

### 3.2.3 Uji Tanin

Uji tannin dapat dilakukan dengan memasukkan 2 ml ekstrak sampel ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Apabila larutan terbentuk

warna coklat kehijauan atau biru kehitaman pada larutan maka positif mengandung senyawa tannin (Novi Yanty et al., 2019).

#### 3.2.4 Uji Stereoid dan Terpenoid

Uji stereoid dan terpenoid dapat dilakukan dengan menggunakan reagen Liebermann-Buchard yaitu menambahkan 3 tetes asam klorida (HCl) pekat dan 1 tetes asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) pekat. Larutan akan berubah menjadi warna merah atau ungu menandakan positif mengandung terpenoid. Dan larutan akan terbentuk warna hijau apabila positif steroid (Julianto, 2019).

#### 3.2.5 Uji Saponin

Senyawa saponin dalam ekstrak sampel daun dapat diuji dengan menambahkan 10 ml air suling panas ke dalam ekstrak sampel, kemudian didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Apabila terbentuk buih atau busa setinggi 1-10 cm hingga 10 menit atau pada penambahan 1 tetes larutan asam klorida (HCl) buih/busa tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin (Novi Yanty et al., 2019).

Dari kelima uji fitokimia di atas dapat dipersingkat dalam **Tabel 2.1** di bawah ini.

**Tabel 2. 1**Tabel Uji Positif Skrining Fitokimia

No.	Kandungan Kimia	Pereaksi	Hasil	Ket
1.	Flavonoid	serbuk Mg dan HCl 37%	Warna coklat kemerahan	+
2.	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Warna biru kehitaman	+
3.	Saponin	+Air panas dan dikocok	Berbusa	+

4.	Steroid	Liebermann-Buchard	Warna hijau	+
5.	Terpenoid	Liebermann-Buchard	Warna merah	+
6.	Alkaloid	-Mayer -Wagner -Hager	-Endapan putih -Endapan coklat -Endapan kunig	+

## 2.6 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (*Thin-Layer Chromatography/TLC*) merupakan teknik kromatografi yang berguna untuk memisahkan senyawa organik berdasarkan perbedaan keporannya. Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa yang tunggal maupun senyawa campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan, maupun dari tumbuhan dan mikroorganisme. Tiga komponen dasar dari suatu sistem kromatografi adalah adsorben (fase diam), fase gerak, dan sampel.

### 2.5.1 Adsorben/Fase Diam

Adsorben adalah lapisan padat pada sebuah lempengan tidak berpori (*non-porous*) di dalam kromatografi lapis tipis digunakan sebagai wadah untuk menotolkan sampel dan tempat dialirinya fase gerak. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan pada saat memilih bahan yang akan digunakan sebagai adsorben yaitu bahan tidak boleh larut di dalam pelarut kromatografi, adsorben tidak boleh bereaksi dengan pelarut, adsorben harus bisa mereversibel, dan adsorben harus cukup ekonomis (tidak mahal) (Rosamah, 2019).

Ada tiga jenis adsorben yang biasa digunakan dalam kromatografi lapis tipis, yaitu:

a. Silika gel

Silika gel adalah adsorben yang paling populer dan disiapkan melalui hidrolisis natrium silikat yang diikuti oleh kondensasi dan polimerisasi lanjutan. Keaktifan silika gel disebabkan oleh gugus Si-OH (silanol) di permukaannya. Ukuran partikel silika gel harus memiliki rata-rata diameter 5-10 mikrometer. Di dalam silika gel merupakan asam lemah dan dapat digunakan untuk steroid, asam amino, alkohol, hidrokarbon, lipid (lemak), aflatoxin, asam bile, vitamin, dan alkaloid.

b. Alumina

Alumina dihasilkan dari kondensasi aluminium hidroksida terhidrat. Keaktifannya bergantung pada atom oksigen dan atom aluminium. Asam, netral, dan basa adalah tiga tingkat keasaman permukaan yang dapat digunakan untuk menghasilkan alumina. Tiga bentuk alumina yang berbeda paling sering digunakan dalam alumina alkali. Sterol, zat pewarna, vitamin, dan alkaloid semuanya dipisahkan menggunakan alumina.

c. Selulosa

Potongan kecil selulosa digunakan untuk membuat pelat TLC selulosa. Partikel selulosa berukuran seragam, yang membuat aliran pelarut lebih stabil dan mencegah bercak (noda) menyebar seperti kebanyakan TLC. Pemisahan hidrofil seperti gula, asam amino, ion anorganik terlarut, dan asam nukleat sering dilakukan dengan menggunakan selulosa.

### 2.5.2 Fase Gerak

Satu atau lebih pelarut membentuk media transportasi yang dikenal sebagai fase gerak. Biasanya, pemisahan senyawa organik selalu menggunakan pelarut campur untuk mendapatkan pemisahan yang baik (Ruliyanti, 2020). Adapun sifat-sifat umum yang harus dimiliki oleh fase gerak adalah (Rosamah, 2019):

- a. Pelarut harus memiliki kemurnian yang tinggi
- b. Pelarut tidak reaktif dengan adsorben dan sampel
- c. Pelarut berharga murah namun berkualitas bagus

### 2.5.3 Nilai $R_f$

Nilai  $R_f$  (*Retardation factor*) adalah persamaan yang digunakan untuk mengukur jarak yang ditempuh spot-spot sampel pada permukaan plat sehingga dapat ditentukan golongan senyawa yang teridentifikasi. Nilai  $R_f$  berjarak angka dari 0,00 hingga 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Sedangkan nilai  $hR_f$  adalah angka  $R_f$  dikalikan dengan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjarak 0 sampai 100 (Ruliyanti, 2020). Rumus persamaan  $R_f$  adalah:

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh h zat}}{\text{Jarak yang ditempuh h pelarut}}$$

## 2.7 Metode Identifikasi Spektrofotometer Visibel Genesys-30

Untuk analisis kualitatif dan identifikasi kelas spesifik zat dalam campuran murni dan biologis, Genesys-30 Visible Spectrophotometer dapat digunakan. Karena senyawa aromatik adalah kromofor UV-tampak yang kuat, pemeriksaan kuantitatif paling baik dilakukan melalui spektroskopi UV-tampak. Spektroskopi

UV-terlihat dapat digunakan untuk mengidentifikasi zat alami. Spektroskopi UV-terlihat (UV-Vis) telah menunjukkan bahwa bahan kimia fenolik, seperti antosianin, tanin, pewarna polimer, dan fenol, membentuk kompleks dengan besi. Selain itu, diketahui dengan baik bahwa metode spektroskopi UV-Vis kurang diskriminatif dalam mengungkap peningkatan konsentrasi polifenol secara keseluruhan. Total ekstrak fenolik (280 nm), flavon (320 nm), asam fenolat (360 nm), dan kandungan antosianida total semuanya dapat diukur dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis (520 nm). Teknik ini tidak memakan waktu, dan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan teknik lain (Julianto, 2019).



**Gambar 2. 5 Spektrofotometer Visibel Genesys-30**

Manfaat menggunakan teknik ini untuk membaca absorbansi adalah dapat dengan mudah dan kuantitatif menghitung absorbansi suatu bahan, berapapun kecilnya. Selain itu, hasilnya sangat akurat. Gadget segera menampilkan nomor yang dibaca sebagai nomor digital (K.R. Markham, 1988).

## **2.8 Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah atom dengan energi tinggi dan satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan; sifat ini menjadikannya atom yang sangat reaktif. Radikal bebas terhubung dengan atom lain yang secara alami juga tidak

berpasangan dengan sangat mudah karena reaktivitasnya yang besar. Radikal bebas memiliki kecenderungan untuk menurunkan tingkat energinya dengan menyumbangkan elektron ekstra yang tidak berpasangan ke zat yang berdekatan karena sifatnya yang sangat reaktif dan tidak stabil. Misalnya, ketika radikal bebas tercipta di dalam tubuh, mereka menargetkan sel dan jaringan di sekitarnya dengan merusak DNA, protein sel, dan membran lipid (Khairunnisa, 2017).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan molekuler. Aktivitas sel terganggu oleh cedera pada sel dan jaringan, yang menyebabkan kerusakan dan bahkan kematian sel. Selain itu, jika oksigen dan lipid berulang kali direaksikan dengan radikal bebas, radikal bebas baru seperti hidroperoksida, superoksida, oksida lipid, dan radikal hidroksil akan diproduksi. Radikal ini sangat sitotoksik ketika bersentuhan dengan sel hidup. Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh radikal bebas antara lain kanker, penyakit saraf, dan penyakit kardiovaskular (Khairunnisa, 2017).

Radikal bebas memiliki sumber internal dan eksternal. Radikal bebas internal diproduksi sebagai produk sampingan dari metabolisme, terutama metabolisme aerobik. Sedangkan sumber eksternal radikal bebas meliputi hal-hal seperti alkohol, beberapa obat-obatan, pestisida, anestesi, rokok, lingkungan, radiasi UV, dan ozon (Fakhriah, 2019).

Tubuh manusia secara konstan menghasilkan radikal bebas sebagai akibat dari metabolisme sel, peradangan, diet, dan paparan sinar  $\gamma$ ,  $x$ , dan UV, di antara faktor-faktor lainnya. Radikal bebas akan membuat bahan kimia teroksidasi dan menyebabkan kerusakan oksidatif jika berinteraksi dengan zat biologis termasuk

lipid, protein, dan DNA (stres oksidatif). Tiga tahap reaksi -inisiasi, propagasi, dan terminasi- membentuk mekanisme untuk menghasilkan reaksi berantai radikal bebas (Yuslianti, 2018).

Fase pertama dalam mengembangkan spesies radikal adalah tahap inisiasi. Karena keterbatasan energi, peristiwa pembelahan homolitik umumnya jarang terjadi. Tahap ini biasanya berkembang sebagai akibat dari beberapa faktor, termasuk suhu tinggi, sinar UV, atau katalis yang mengandung logam yang digunakan sebagai penghalang energi. Tahap propagasi reaksi berantai, juga dikenal sebagai "rantai," datang berikutnya. Setelah radikal bebas reaktif diproduksi, ia berfungsi sebagai katalis bagi radikal bebas lain untuk berinteraksi dengan molekul yang stabil dan terbentuk. Akibatnya, abstraksi hidrogen atau penambahan radikal pada ikatan rangkap, yang menghasilkan banyak radikal bebas, terus berlangsung. Jika dua radikal berinteraksi dan membentuk spesies non-radikal pada tahap terminasi, reaksi radikal akan terhenti (Yuslianti, 2018).

Tubuh manusia bisa mendapatkan keuntungan dari radikal bebas dengan cara lain. Rasio radikal bebas terhadap antioksidan harus diatur agar efek menguntungkan ini terjadi, oleh karena itu tubuh tidak dapat mengandung radikal bebas dalam jumlah berlebihan. Fosforilasi oksidatif, apoptosis sel, dan kematian mikroba adalah keuntungan dari radikal bebas (Khairunnisa, 2017).

## **2.9 Antioksidan**

Antioksidan adalah zat yang memiliki struktur kimiawi yang membuatnya mudah menyumbangkan elektron-khususnya atom hidrogen-kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu kemampuannya untuk menjalankan tugasnya

dan menghentikan reaksi berantai radikal bebas. Antioksidan juga dapat dianggap sebagai zat atau bahan kimia yang dapat menggagalkan atau menghentikan reaksi oksidasi pada substrat yang rentan (Leny Puspitasari et al., 2016).

Sebenarnya tubuh manusia memproduksi antioksidan, namun dalam jumlah yang sangat sedikit yang secara esensial berguna untuk mencegah stress oksidatif. Antioksidan alami yang diproduksi tubuh antara lain glutathion dan katalase. Dikarenakan tubuh hanya memproduksi sedikit, dibutuhkan asupan tambahan antioksidan (antioksidan eksogen) dari luar seperti suplemen. Contoh antioksidan eksogen yang cukup dikenal di masyarakat adalah vitamin C, vitamin E, beta-karoten dari tumbuhan, dan ekstrak tumbuhan yang mengandung antioksidan seperti ekstrak daun zaitun (Khairunnisa, 2017).

Antioksidan memainkan peran penting dalam tubuh sebagai garis pertahanan pertama melawan radikal bebas. Sebelum radikal bebas merusak sel, antioksidan akan membatasi proses pembentukan dan respon radikal bebas (Khairunnisa, 2017).

Secara umum, dikenal tiga kelompok antioksidan, yaitu:

1. Antioksidan enzimatik

Antioksidan enzimatik bekerja dengan mengkatalisasi (mempercepat) pemecahan radikal bebas di dalam sel. Superoksida dismutase (SOD), perwakilan dari kelas antioksidan enzim, berfungsi dengan mengubah anion superoksida atau ion negatif menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan oksigen ( $O_2$ ). SOD adalah starter reaksi berantai yang kuat. Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) harus diubah menjadi air untuk mencegah pembentukan radikal hidrosil, dan salah satu enzim

yang dapat meminimalkan pembentukan  $H_2O_2$  adalah katalase (CAT). Molekul yang dikenal sebagai glutathione peroxidase (GPx) sangat penting untuk mencegah kerusakan oksidatif (Khairunnisa, 2017).

## 2. Antioksidan pemutus rantai

Molekul kecil yang dapat menerima dan memberikan elektron ke atau dari radikal bebas untuk membentuk senyawa baru yang stabil dikenal sebagai antioksidan pemecah rantai. Contohnya termasuk vitamin C dan vitamin E (tocopherol) (asam askorbat) (Khairunnisa, 2017).

## 3. Antioksidan logam transisi terikat protein

Agar gugus antioksidan jenis ini berfungsi, ia harus menempel pada ion logam seperti  $Fe^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$ . Flavonoid adalah ilustrasi dari antioksidan logam transisi yang terikat protein. Jenis antioksidan ini memulihkan sel dan jaringan yang telah dirusak oleh radikal bebas (Khairunnisa, 2017).

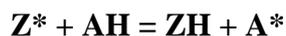
Pelepasan hidrogen dari antioksidan menjadi radikal bebas, pelepasan elektron dari antioksidan menjadi radikal bebas, penambahan lemak pada cincin aromatik pada antioksidan, dan pembentukan senyawa adalah empat jenis mekanisme reaksi yang dapat digunakan antioksidan untuk menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari oksidasi lemak. interaksi yang melibatkan cincin aromatik antioksidan dan lipid (Khairunnisa, 2017).

## 2.10 Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

DPPH atau 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl yang massa molar relatifnya (DPPH; C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, M-394.33), merupakan radikal bebas yang stabil. Absorbansi dapat dilihat pada panjang gelombang maksimum 517 nm karena DPPH memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang tersebut. Kemampuan menghambat radikal bebas DPPH oleh suatu antioksidan dinyatakan dalam parts per million (ppm). Metode pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan DPPH merupakan metode yang paling sederhana. Komponen ekstrak dicampur dengan larutan DPPH dan diukur absorbansinya setelah waktu inkubasi yang ditentukan yaitu 30-40 menit (Khairunnisa, 2017).

Blois awalnya menguraikan metodologi ini pada tahun 1958. Dengan menerima atom hidrogen dari antioksidan yang direaksikan, elektron ganjil pada atom nitrogen DPPH berkurang. Karena satu atom bebas berpindah ke atom lain, DPPH dikenal sebagai senyawa yang stabil. Warna ungu DPPH karena itu akan hilang bila digabungkan dengan senyawa lain yang dapat memberikan atom hidrogennya (Khairunnisa, 2017).

Berikut adalah reaksi DPPH dengan molekul pendonor atom hidrogen.



Keterangan:

Z : Radikal DPPH

AH : Molekul pendonor

ZH : Bentuk tereduksi

A : Radikal bebas yang terbentuk

+ RH

+ R

### Gambar 2. 6 Radikal DPPH dan bentuk stabilnya

Secara teoritis, DPPH menyerap paling kuat pada panjang gelombang 517 nm. Dengan beberapa pelarut, termasuk metanol dan etanol, DPPH merupakan metode yang cepat, mudah, dan sering digunakan untuk menentukan kandungan antioksidan dalam berbagai makanan. Manfaat dari pendekatan ini adalah bahwa DPPH dapat bereaksi dengan bahan apapun dan, meskipun aktivitasnya rendah, dapat mengidentifikasi adanya antioksidan. Karena kelemahan DPPH yang mudah rusak, pengolahannya harus cepat dan hati-hati (Khairunnisa, 2017).

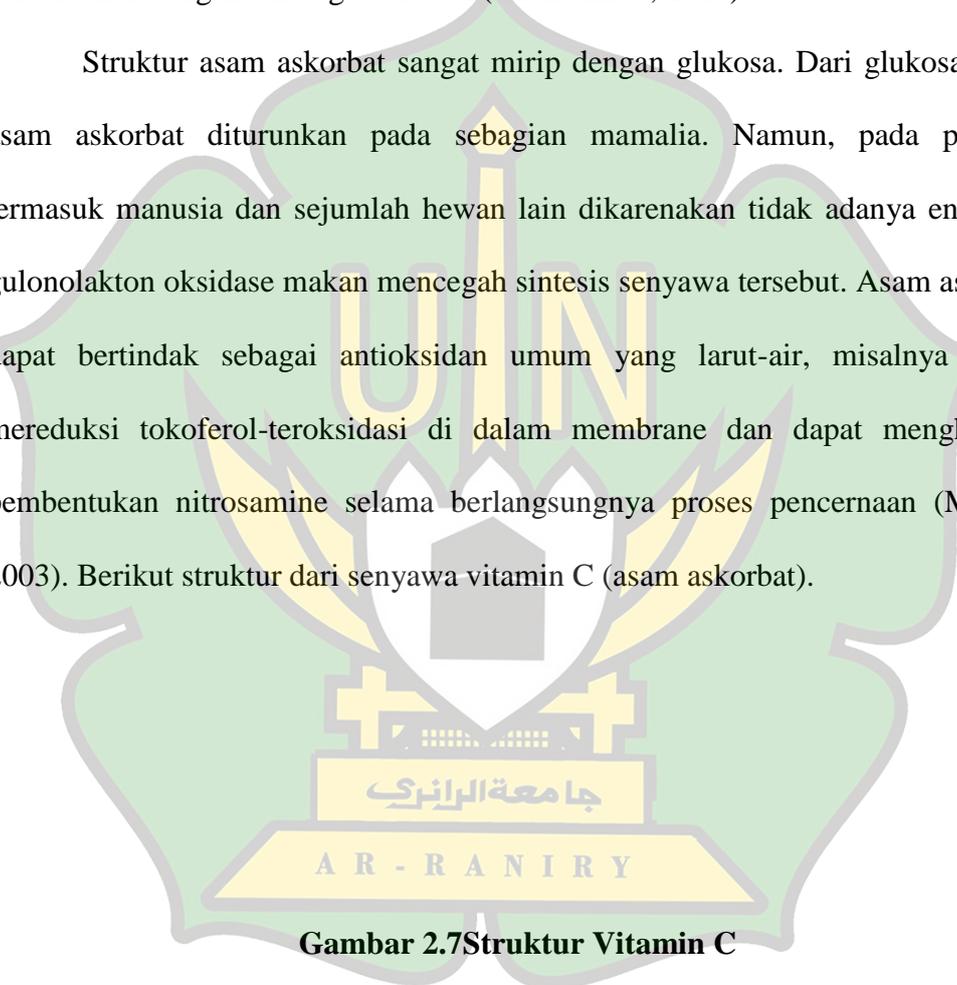
#### 2.11 Vitamin C sebagai Pembanding

Salah satu nutrisi terpenting bagi manusia dan hewan adalah vitamin C, sering dikenal sebagai asam askorbat. Karena kerentanannya terhadap degradasi, vitamin ini sangat rapuh. Buah dan sayuran seperti kiwi, jeruk, tomat, sayuran hijau, berry, dan lainnya merupakan sumber alami vitamin C (Techinamuti & Pratiwi, 2018).

Kapasitas vitamin C untuk mengais radikal bebas memberikan bukti efek antioksidannya. Sebagai hasil dari kelarutan air yang tinggi dari vitamin C, ia

dapat menetralkan radikal aquos peroxy sebelum merusak lipid. Untuk menghentikan reaksi berantai radikal bebas, vitamin C juga bekerja sama dengan glutathione peroksidase dan vitamin E yang larut dalam lemak. Namun, vitamin C mudah rusak (teroksidasi) saat terpapar udara, terutama saat panas dan bersentuhan dengan tembaga dan besi (Khairunnisa, 2017).

Struktur asam askorbat sangat mirip dengan glukosa. Dari glukosa inilah asam askorbat diturunkan pada sebagian mamalia. Namun, pada primata, termasuk manusia dan sejumlah hewan lain dikarenakan tidak adanya enzim L-gulonolaktone oksidase maka mencegah sintesis senyawa tersebut. Asam askorbat dapat bertindak sebagai antioksidan umum yang larut-air, misalnya dalam mereduksi tokoferol-teroksidasi di dalam membrane dan dapat menghambat pembentukan nitrosamine selama berlangsungnya proses pencernaan (Murray, 2003). Berikut struktur dari senyawa vitamin C (asam askorbat).



**Gambar 2.7** Struktur Vitamin C

## **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

Bab metodologi penelitian terdiri atas garis besar penelitian, alat dan bahan dalam penelitian, tempat dan waktu penelitian, prosedur yang akan dilakukan dan diagram alir penelitian. Adapun sub bab tersebut akan diuraikan secara lengkap sebagai berikut.

### **3.1 Garis Besar Penelitian**

Secara umum, penelitian ini meliputi beberapa tahap yaitu persiapan sampel penelitian, pembuatan ekstrak sampel penelitian, uji fitokimia senyawa metabolit sekunder, uji kromatografi lapis tipis, dan pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun benalu mahoni.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia, wadah maserasi, labu ukur, erlenmeyer, gelas ukur, rotary evaporator, blender, timbangan analitik, kaca arloji, aluminium foil, vial, kuvet, spektrofotometer UV Genesys-30, batang pengaduk, pipet volume, pipet tetes, alat kromatografi kolom cair, kertas saring whatman, dan lempeng silika.

#### **2. Bahan**

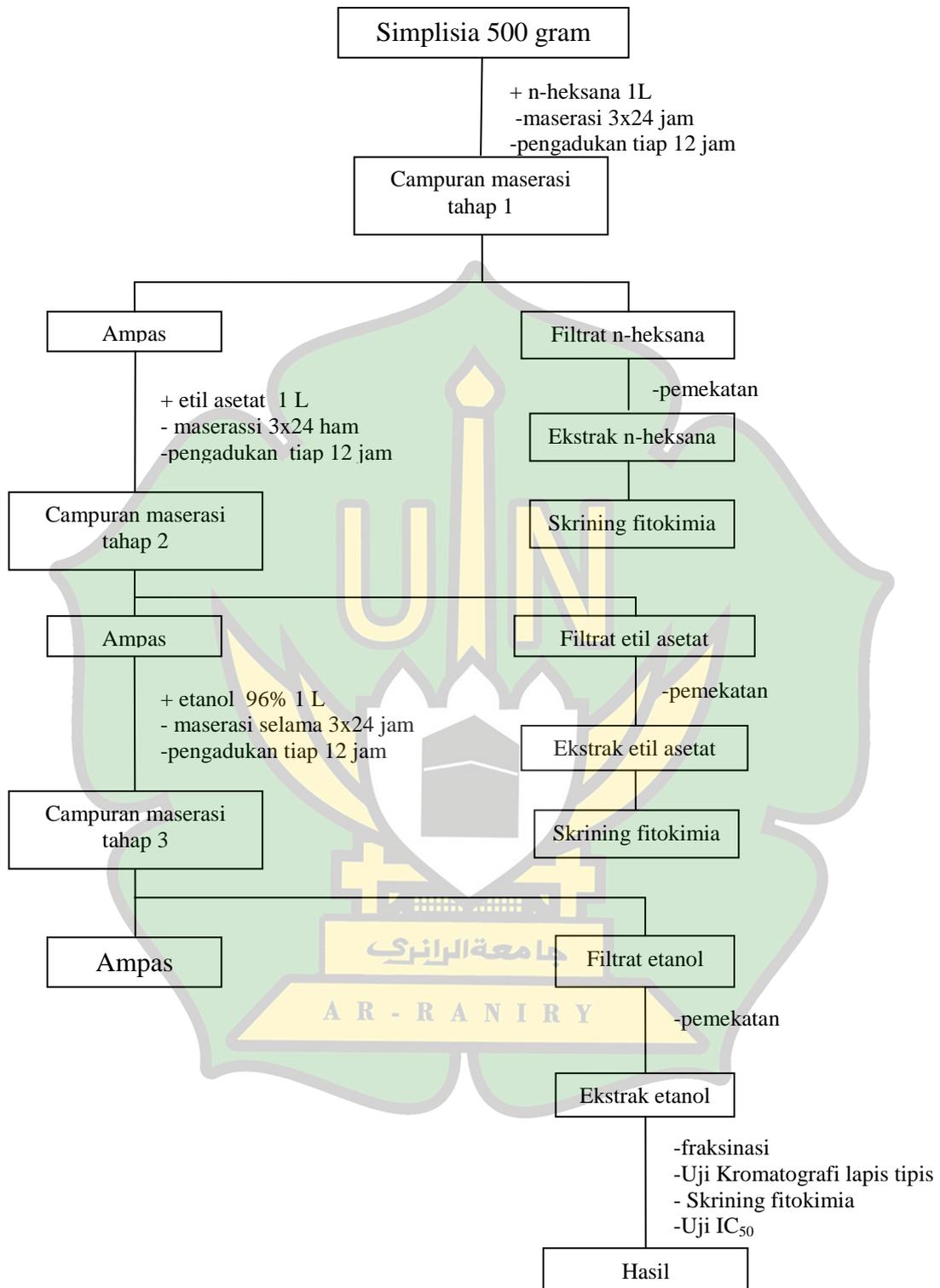
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: sampel daun benalu mahoni, etanol 96%, metanol, n-heksana, etil asetat, serbuk vitamin C murni, DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl*), HCl 37%, aquadest, silica gel F<sub>254</sub>, FeCl<sub>3</sub>, dan asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 98%.

### 3.3 Diagram Alir

Penelitian ini dilakukan dengan metode ekstraksi yang terdiri dari penyiapan sampel benalu mahoni, ekstraksi sampel, fraksinasi sampel, uji kromatografi lapis tipis, skrining fitokimia, dan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun benalu mahoni.

Diagram alir penelitian ini dapat dilihat pada **Gambar 3.1**





**Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian pengukuran aktivitas antioksidan daun benalu mahoni menggunakan DPPH**

### 3.4 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Agustus 2022. Tahapan persiapan sampel, pembuatan sampel, dan uji laboratorium dilakukan di laboratorium Pendidikan Kimia Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Ar-Raniry.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel diambil dengan metode *leaf sampling unit* (LSU) pada pagi hari dengan ketentuan sampel daun dalam kondisi baik, tidak terlalu tua, dan tidak terlalu muda. Daun dikumpulkan sebanyak 4 kg karena sampel yang akan dimaserasi dibutuhkan sebanyak 500 gram.

#### 3.4.2 Pengolahan Sampel

Sebelum dilakukan ekstraksi sampel dengan metode maserasi, daun benalu mahoni terlebih dahulu disortasi basah, kemudiandikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang selama tujuh hari. Maserasi dilakukan pada ruangan yang terlindung dari cahaya matahari langsung agar tidak merusak senyawa kimia metabolit sekunder yang terkandung dalam daun benalu mahoni. Sampel yang telah kering dipotong kecil-kecil ukuran 3-5 cm, kemudian dihaluskan menggunakan penggiling elektronik (*blender*), lalu disimpan dalam wadah yang tertutup.

#### 3.4.3 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dari daun benalu mahoni dilakukan dengan menggunakan metode maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat adalah proses pengekstrakan yang bertujuan mengekstrak keseluruhan senyawa dalam sampel daun benalu

mahoni berdasarkan polaritas pelarut yang digunakan bertahap (Widyasanti et al., 2019). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah N-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 96%. Maserasi tahap pertama diawalidengan perendaman simplisia yang telah halus sebanyak 500 gram dengan pelarut n-heksana 1 liter, kemudian ditutup rapat dan dibungkus menggunakan plastik hitam agar terhindar dari cahaya, udara, dan kelembaban. Perendaman dilakukan selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan setiap 12 jam sekali. Selanjutnya campuran disaring untuk memisahkan ampas dan filtrat daun benalu mahoni menggunakan kertas saring. Hasil filtrat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak n-heksana pekat. Ampas yang diperoleh dari tahap sebelumnya dimasukkan kembali ke dalam wadah untuk maserasi tahap kedua dengan pelarut etil asetat dengan durasi waktu perendaman dan pengadukan yang sama dengan tahapan maserasi sebelumnya. Filtrat yang didapatkan juga dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan mendapatkan ekstrak etil asetat pekat. Selanjutnya ampas yang diperoleh dilakukan maserasi tahap ketiga dengan pelarut etanol 96% dan didapatkan ekstrak etanol pekat.

#### **3.4.4 Fraksinasi Ekstrak Etanol**

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel difraksinasi menggunakan kromatografi kolom cair. Pada tabung kolom diisi dengan 10 gram silica gel F<sub>254</sub> kemudian dipadatkan. Ekstrak ditambahkan 1 gram silica gel F<sub>254</sub> kemudian diaduk hingga homogen. Sampel ekstrak yang sudah homogen diletakkan di atas silica gel F<sub>254</sub> pada kolom cair dan ditutup dengan kertas saring whatman. Fase gerak

dituangkan dengan perbandingan sebagai berikut: n-heksana 100% (F1), etil asetat 100% (F2) dan ethanol 96% (F3) masing-masing 50 ml (Hartati, 2016).

### 3.4.5 Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder

#### a. Flavonoid

Ekstrak dan fraksi masing-masing sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,1gram serbuk magnesium dan 5 tetes asam klorida (HCl) pekat. Apabila terbentuk warna biru, kuning jingga hingga merah, larutan tersebut positif mengandung senyawa flavonoid (Novi Yanty et al., 2019).

#### b. Tanin

Ekstrak dan fraksi masing-masing sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman pada larutan maka positif mengandung senyawa tannin (Novi Yanty et al., 2019).

#### c. Saponin

Sebanyak 0,5gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Apabila terbentuk buih atau busa setinggi 1-10 cm hingga 10 menit atau pada penambahan 1 tetes larutan asam klorida (HCl) 37% buih/busanya tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin (Novi Yanty et al., 2019).

#### d. Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak dan fraksi sampel sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 3 tetes asam klorida (HCl) pekat dan 1 tetes asam sulfat

(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pekat. Jika larutan terbentuk warna merah atau ungu maka positif mengandung terpenoid. Apabila larutan terbentuk warna hijau maka positif steroid (Novi Yanty et al., 2019).

### 3.4.6 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak etanol daun benalu mahoni dilarutkan dalam methanol, selanjutnya ditotolkan pada lempeng silika kromatografi lapis tipis dengan jarak 1 cm dari tepi lempeng dan dielusi dengan eluen n-heksana:etil asetat (5:5). Didiamkan beberapa saat kemudian dilihat pada sinar tampak dan UV<sub>366</sub>.

Hasil bercak noda pada plat silika KLT dihitung nilai R<sub>f</sub> untuk menentukan golongan senyawa metabolit sekundernya. Adapun nilai R<sub>f</sub> ditentukan menggunakan rumus (Ruliyanti, 2020):

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

### 3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Benalu Mahoni

#### a. Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 10 miligram menggunakan timbangan analitik kemudian dilarutkan dengan 100 ml metanol dalam labu ukur yang telah dibungkus dengan aluminium foil. Konsentrasi larutan DPPH diperoleh adalah 100 ppm atau 0.28 mM. DPPH sangat sensitif terhadap cahaya dikarenakan dapat menyebabkan kerusakan pada senyawa. Oleh sebab itu larutan DPPH harus disimpan di dalam labu ukur yang terlindung dari cahaya dengan menggunakan aluminium foil (Maesaroh et al., 2018).

#### b. Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Daun Benalu Mahoni

Ekstrak etanol daun benalu mahoni ditimbang sebanyak 10 miligram kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan methanol hingga tanda batas. Larutan sampel berkonsentrasi 100 ppm.

c. Pembuatan Larutan Vitamin C

Larutan stok 100 ppm disiapkan dengan cara melarutkan 10 mg vitamin C dengan pelarut metanol dalam labu ukur 100 ml hingga tanda batas.

### 3.4.8 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

DPPH adalah salah satu jenis antioksidan yang stabil berwarna ungu. Menurut standar warna *komplementer*, warna ungu berada pada panjang gelombang 500-560 nm (Reza, 2021). Optimasi dilakukan untuk menentukan panjang gelombang maksimum dari suatu sampel. Diperoleh hasil bahwa panjang gelombang dari DPPH berada pada 517 nm.

b. Pengukuran serapan larutan DPPH

Larutan DPPH 100 ppm diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 20, 40, 60, dan 80 ppm dengan mengambil sebanyak 10, 20, 30, dan 40 ml dari larutan DPPH 100 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas di dalam labu ukur 50 ml. Selanjutnya variasi konsentrasi larutan DPPH diukur serapan menggunakan spektrofotometer Visibel Genesys-30 pada rentang panjang gelombang 517 nm (Khairunnisa, 2017).

c. Pengukuran aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH dengan sampel

Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan dengan lima variasi konsentrasi ekstrak etanol daun benalu mahoni, yaitu 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm.

Series konsentrasi dibuat dengan mengambil masing-masing 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; dan 2,5 ml larutan ekstrak etanol daun benalu mahoni 100 ppm, kemudian ditambahkan pelarut metanol 5,5 ml; 5,0 ml; 4,5 ml; 4,0 ml; dan 3,5 ml ke dalam tiap series konsentrasi sampel. Terakhir ditambahkan masing-masing larutan DPPH ke dalam larutan ekstrak etanol daun benalu mahoni sampai tanda batas labu ukur ukuran 10 ml.

Pengukuran aktivitas antioksidan pada kelima variasi konsentrasi larutan sampel dilakukan setiap 20 menit sekali mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-120 pada panjang gelombang maksimum 517 nm (Khairunnisa, 2017).

#### d. Pengukuran aktivitas antioksidan Vitamin C

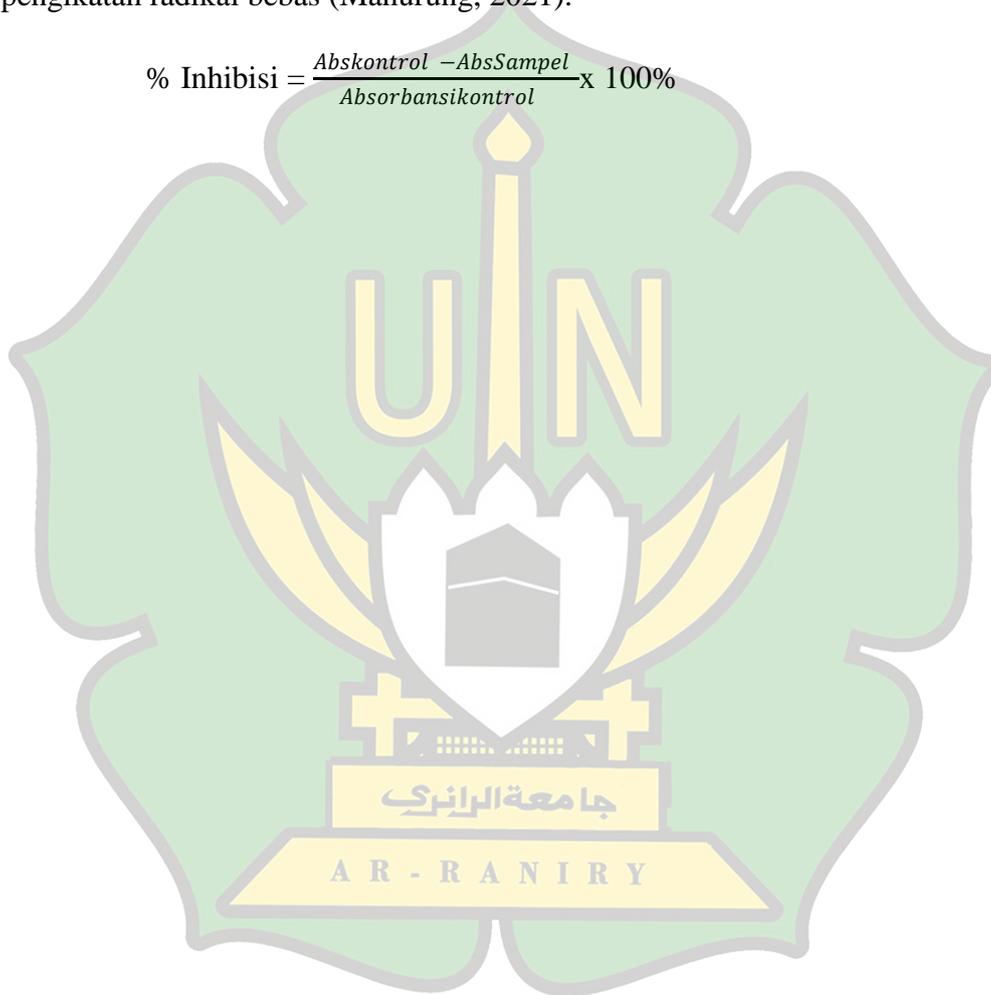
Pengujian aktivitas antioksidan pada vitamin C juga dilakukan dengan lima variasi konsentrasi, yaitu 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Sama dengan pembuatan larutan sampel sebelumnya, series konsentrasi vitamin C dibuat dengan mengambil masing-masing 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; dan 2,5 ml larutan vitamin C 100 ppm kemudian ditambahkan pelarut metanol 5,5 ml; 5,0 ml; 4,5 ml; 4,0 ml; dan 3,5 ml ke dalam tiap series konsentrasi vitamin C. Selanjutnya ditambahkan masing-masing larutan DPPH ke dalam larutan vitamin C sampai tanda batas labu ukur 10 ml. Pengukuran aktivitas antioksidan pada kelima series konsentrasi larutan vitamin C dilakukan setiap 20 menit sekali mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-120 pada panjang gelombang maksimum 517 nm.

### 3.6 Pengukuran Nilai IC<sub>50</sub>

Data ditabulasi dan ditentukan berdasarkan aktivitas penghambatannya. Data dalam penelitian ini diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi terhadap

ekstrak etanol daun benalu mahoni (*dendrophthu sp*) dengan menggunakan spektrofotometri Visibel Genesis-30 dan dilakukan analisis data secara menggunakan regresi linier. Nilai IC<sub>50</sub> (50% *Inhibitory Concentration*) ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase pengikatan radikal bebas (Manurung, 2021).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abskontrol} - \text{AbsSampel}}{\text{Absorbansikontrol}} \times 100\%$$



## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bab IV ini merupakan uraian pembahasan tentang hasil yang didapatkan dari penelitian. Penelitian ini terdiri dari empat tahapan yaitu pembuatan ekstrak sampel daun benalu mahoni, skrining fitokimia, uji kromatografi lapis tipis, dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol sampel daun benalu mahoni. Penjelasan mengenai hasil-hasil ini dibahas secara lengkap sebagai berikut.

### **4.1 Penyiapan Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan daun benalu mahoni sebanyak 4 kg yang diperoleh dari pohon mahoni di lingkungan Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Daun benalu mahoni diambil pada waktu pagi hari kemudian disortasi dan dibersihkan. Selanjutnya daun benalu mahoni dikeringkan menggunakan metode pengeringan udara selama 7 hari dengan dibiarkan di ruangan terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung. Kemudian daun benalu mahoni yang telah kering dipotong kecil-kecil berukuran 3-5 cm dan dihaluskan menggunakan *blender*. Massa daun benalu mahoni yang telah halus diperoleh sebanyak 640 gram. Sampel daun benalu mahoni segar dapat dilihat pada **Gambar 4.1(a)**, sedangkan gambar simplisia daun benalu manohi yang telah halus dapat dilihat pada **Gambar 4.1(b)**.



(a)



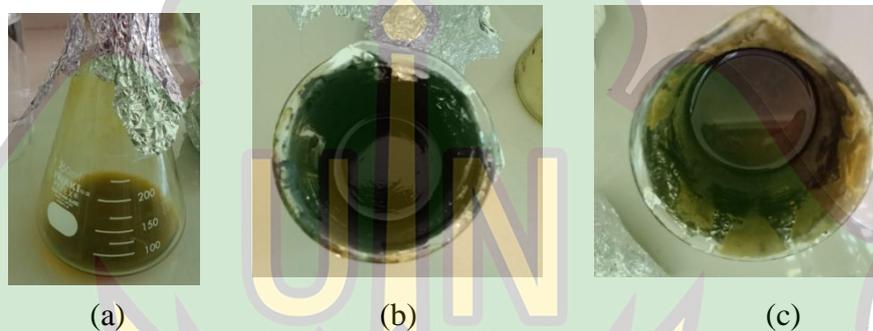
(b)

**Gambar 4.1**(a) Daun benalu mahoni segar;(b) Simplisia benalu mahoni

#### **4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Benalu Mahoni**

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi bertingkat. Maserasi yang dilakukan dalam waktu tertentu dapat memecah dinding dan membran sel, sehingga senyawa metabolit sampel dapat keluar (Khunaif, 2010). Dalam penelitian ini, maserasi dilakukan dengan merendam sebanyak 500 gram sampel daun benalumahoni dengan tiga jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-heksana yang bersifat nonpolar, etil asetat bersifat semi polar, dan etanol yang merupakan polar. Sampel daun benalu mahoni dimaserasi dengan masing-masing pelarut selama 3 hari dengan pengadukan setiap 12 jam. Untuk maserasi tahap pertama digunakan pelarut n-heksana yang bersifat non polar sebanyak 1 liter. Filtrat yang didapat kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 48°C sehingga memperoleh ekstrak n-heksana pekat sebanyak 0,84 gram. Ampas dari daun benalu mahoni yang tersisa dilanjutkan maserasi tahap kedua dengan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dalam waktu dan durasi pengadukan yang sama seperti sebelumnya. Dari hasil maserasi bertingkat tahap dua dan dilakukan

pemekatan filtrat dengan *rotary evaporator* didapatkan hasil sebanyak 14,13gram ekstrak etil asetat. Maserasi bertingkat tahap terakhir digunakan pelarut etanolsebanyak 1 liter yang bersifat polar. Setelah dilakukan proses pemekatan filtrat didapatkan hasil ekstrak etanol sebanyak 43,85 gram. Ketiga filtrat dan ekstrak pekat hasil ekstraksi dari maserasi bertingkat dapat dilihat pada **Gambar 4.2.**



**Gambar 4. 2** (a) Filtrat N-Heksana; (b) Ekstrak pekat; dan (c) Etil asetat Ekstrak Etanol

Suatu senyawa akan larut dalam pelarut yang memiliki sifat yang sama dengan senyawa tersebut. Maserasi bertingkat ini digunakan dengan tujuan agar pelarut mampu menarik semua senyawa metabolit yang terdapat pada sampel sehingga proses identifikasi senyawa metabolit sekunder dalam penelitian mendapatkan hasil yang baik.

Hasil randemen dari ketiga ekstrak daun benalu mahoni dapat dilihat di dalam tabel **Tabel 4.1** berikut ini.

**Tabel 4. 1** Rendemen ekstrak hasil maserasi

Ekstrak	Bobot (gram)	Rendemen (%)
N-Heksana	0,84	0,16
Etil Asetat	14,13	2,8
Etanol	43,85	8,77

Persen rendemen dari ketiga ekstrak daun benalu mahoni dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

Perbedaan bobot ekstrak yang dihasilkan pada maserasi bertingkat ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar lebih banyak terkandung dalam sampel daun benalu mahoni dibandingkan senyawa metabolit sekunder bersifat nonpolar dan semi polar. Hal ini bisa dilihat dari rendemen paling banyak dihasilkan dari ekstraksi dengan pelarut etanol sebagai pelarut polar, sedangkan rendemen paling sedikit adalah ekstraksi dengan pelarut nonpolar, yaitu n-heksana. Contoh senyawa metabolit sekunder bersifat polar adalah flavonoid.

#### 4.3 Fraksinasi Ekstrak Daun Benalu Mahoni

Fraksinasi adalah metode pemisahan kandungan senyawa utama yang satu dengan kandungan senyawa utama yang lain yang terkandung dalam satu simplisia (Novi Yanty et al., 2019). Fraksinasi dilakukan dengan tujuan agar dapat menggolongkan senyawa metabolit sesuai dengan sifat kelarutannya agar memudahkan dalam identifikasi golongan senyawanya. Metode fraksinasi yang digunakan adalah kromatografi kolom cair dapat dilihat pada **Gambar 4.3**.



**Gambar 4.3**Fraksinasi Kromatografi Kolom Cair Esktak Etanol Daun Benalu Mahoni

Prinsip dasar kromatografi kolom cair adalah adsorpsi, dimana campuran komponen terlarut (sampel) dalam fase gerak dimasukkan ke dalam kolom dan komponen bergerak tergantung pada afinitas relatifnya terhadap fase diam (Dwi et al., 2020). Adsorben bertindak sebagai fase diam yang dipakai pada fraksinasi kromatografi kolom cair ini adalah silika gel F<sub>254</sub> yang paling umum digunakan. Sedangkan fase gerak yang digunakan adalah N-heksana, etil asetat, dan etanol. Pemilihan fase gerak ini berdasarkan penelusuran pustaka.

Prinsip kerja kromatografi kolom cair yaitu fase gerak mengalir fase diam dan membawa komponen yang memiliki afinitas kecil mengikuti aliran pelarut. Sedangkan komponen yang memiliki afinitas besar terhadap adsorben akan tertahan tidak ikut terbawa bersama aliran pelarut.

Proses fraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair ini menghasilkan tiga fraksi yang dialiri oleh tiga eluen/fase gerak secara berturut-turut dari pelarut yang non-polar, semi polar hingga polar. Adapun fase gerak yang digunakan adalah n-heksana, etil asetat, dan etanol masing-masing sebanyak

50 ml. Dan fraksi yang dihasilkan adalah fraksi N-heksan, fraksi Etil asetat, dan fraksi Etanol.

#### 4.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah uji pendahuluan dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tumbuhan (Kristanti, 2019).

Berdasarkan referensi dari penelitian (Setianingrum, 2012), peneliti hanya melakukan empat jenis uji identifikasi senyawa metabolit sekunder yaitu; uji flavonoid, saponin, tannin, dan steroid/terpenoid. Berikut hasil skrining fitokimia disajikan dalam **Tabel 4.2** di bawah ini.

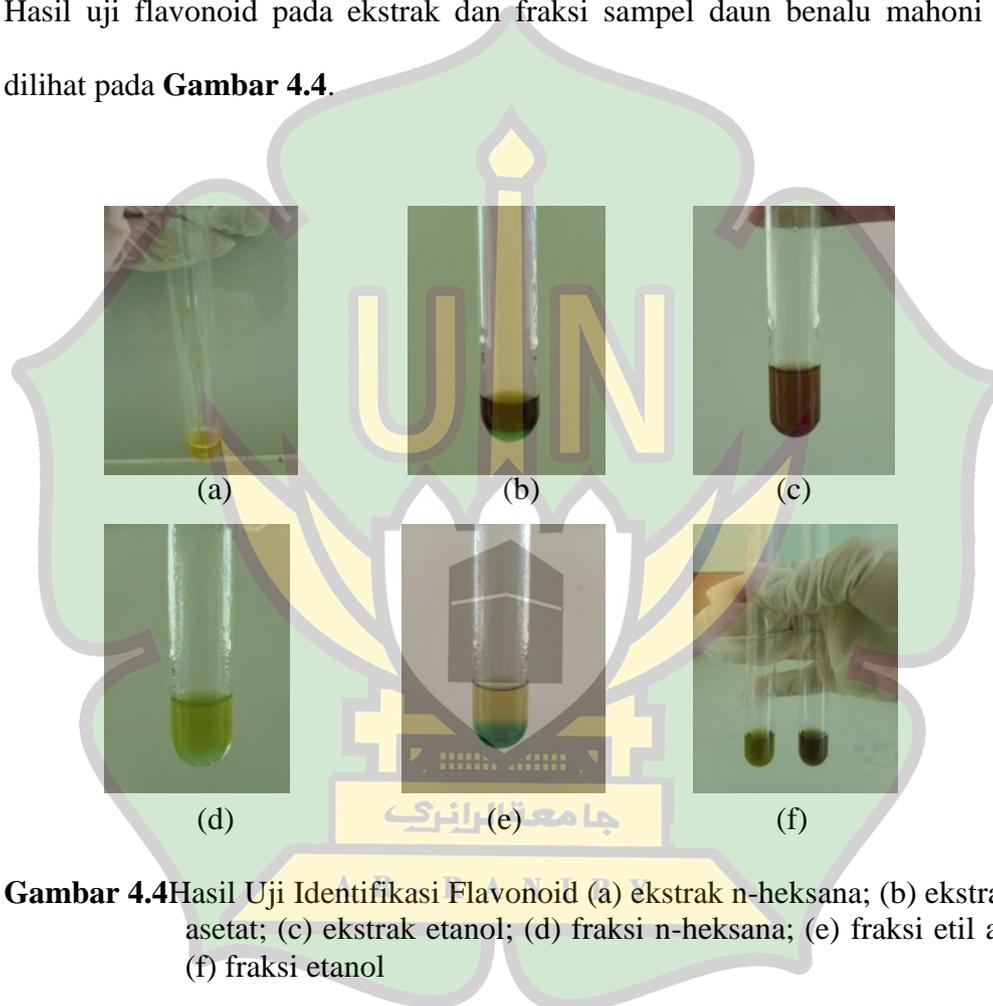
**Tabel 4. 2 Hasil Skrining Fitokimia**

No	Sampel	Uji Flavonoid	Uji Tannin	Uji Saponin	Uji Steroid/ Terpenoid
1.	EkstrakN-heksana	-	-	-	-
2.	Ekstrak Etil Asetat	+	-	-	+
3.	Ekstrak Etanol	+	+	+	+
4.	Fraksi N-heksana	+	-	-	-
5.	Fraksi Etil asetat	+	-	-	-
6.	Fraksi Etanol	+	-	-	-

##### a. Uji Flavonid

Uji flavonoid dilakukan pada semua fraksi dan ekstrak sampel daun benalu mahoni. Metode uji flavonoid yang digunakan adalah dengan memasukkan serbuk logam magnesium ke dalam setiap ekstrak dan fraksi kemudian ditambahkan asam klorida pekat beberapa tetes. Dari uji flavonoid ini didapatkan hasil bahwa ekstrak etil asetat, ekstrak etanol dan fraksi etanol positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari kuning menjadi merah

kecoklatan. Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat juga positif mengandung flavonoid dikarenakan padakedua larutan timbulnya perubahan warna kuning kehijauan. Hanya ekstrak n-heksana yang menunjukkan hasil negatif mengandung senyawa flavonoid dikarenakan tidak terjadinya perubahan warna pada larutan. Hasil uji flavonoid pada ekstrak dan fraksi sampel daun benalu mahoni dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.

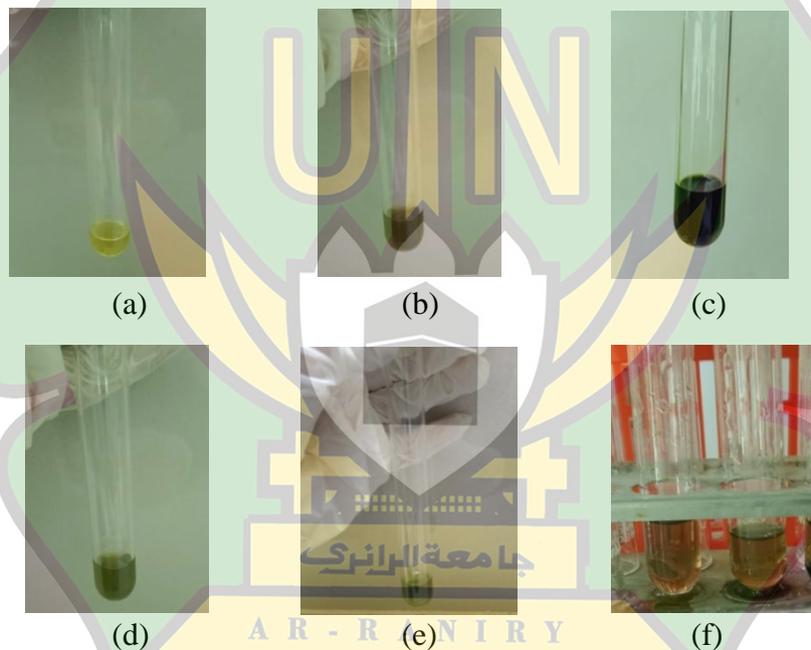


**Gambar 4.4** Hasil Uji Identifikasi Flavonoid (a) ekstrak n-heksana; (b) ekstrak etil asetat; (c) ekstrak etanol; (d) fraksi n-heksana; (e) fraksi etil asetat; (f) fraksi etanol

Warna kuning kehijauan dan jingga kemerahan yang terdapat pada larutan uji flavonoid adalah hasil dari reduksi senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi daun benalu mahoni oleh  $Mg^{2+}$  dan HCl pekat sehingga membentuk senyawa kompleks  $[Mg(OAr)_6]^{4-}$  yang berwarna kuning kehijauan atau jingga kemerahan (Oktavia Dan, 2021).

### b. Uji Tannin

Keberadaan tannin diidentifikasi dengan metode penambahan pereaksi Besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ). Pada keenam ekstrak dan fraksi, hanya ekstrak etanol yang menunjukkan hasil positif dengan timbulnya perubahan warna menjadi biru kehitaman. Sedangkan kelima ekstrak dan fraksi lainnya tidak menunjukkan perubahan warna yang berarti hasil negatif. Hasil uji tannin terdapat pada **Gambar 4.5**.



**Gambar 4. 5**(a) Ekstrak n-heksana; (b) ekstrak etil asetat; (c) ekstrak etanol; (d) fraksi n-heksana; (e) fraksi etil asetat; (f) fraksi etanol.

Penambahan senyawa  $\text{FeCl}_3$  pada larutan uji menyebabkan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tannin mengalami kondensasi. Senyawa  $\text{FeCl}_3$  dalam air terionisasi menghasilkan  $\text{Fe}^{3+}$  dan  $\text{Cl}^-$ . Kemudian kation  $\text{Fe}^{3+}$  akan membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan atom O dari gugus hidroksil

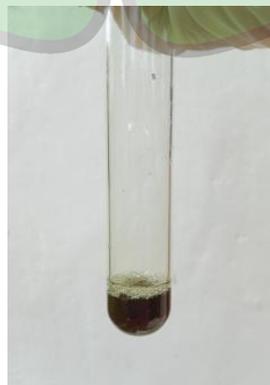
sehingga terbentuk senyawa kompleks (tannin dan ion  $\text{Fe}^{3+}$ ) yang berwarna biru kehitaman (Oktavia Dan, 2021).

c. Uji Saponin

Saponin diidentifikasi senyawanya dengan cara menambahkan air panas kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji saponin pada ekstrak etanol sampel daun benalu mahoni menunjukkan hasil yang positif dikarenakan terdapat buih atau busa setelah dilakukan pengocokan selama 10 detik dan busa tidak hilang ketika ditambahkan asam klorida pekat satu tetes. Busa dengan ukuran panjang kurang lebih 1 inci juga mampu bertahan selama 10 menit. Buih yang terdapat pada larutan ekstrak etanol terbentuk karena adanya senyawa glikosida. Senyawa glikosida dalam air menghasilkan busa dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Forestryana, 2020).

Sedangkan pada kelima ekstrak dan fraksi lainnya tidak menunjukkan hasil positif dikarenakan tidak munculnya busa setelah dilakukan perlakuan yang sama seperti pada ekstrak etanol di atas.

Hasil uji identifikasi senyawa saponin pada ekstrak etanol dapat dilihat pada **Gambar 4.6** di bawah ini.



**Gambar 4. 6** Hasil positif uji senyawa saponin

## d. Uji Terpenoid/Steroid

Uji senyawa terpenoid/steroid dilakukan menggunakan metode Liebermann-Buchard yaitu dengan menambahkan 3 tetes asam klorida (HCl) pekat dan 1 tetes asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) pekat pada ekstrak dan fraksi sampel daun benalu mahoni. Dari keenam ekstrak dan fraksi, hanya ekstrak etanol yang menunjukkan hasil positif dengan timbulnya perubahan warna jingga kemerahan yang menunjukkan keberadaan terpenoid. Warna merah yang dihasilkan karena senyawa terpenoid teroksidasi membentuk ikatan rangkap terkonjugasi (Oktavia Dan, 2021). Hasil positif uji terpenoid dapat dilihat pada **Gambar 4.7**.

**Gambar 4. 7** Hasil positif uji senyawa terpenoid ekstrak etanol**4.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

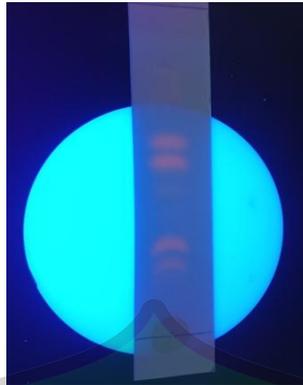
KLT merupakan salah satu metode pemisahan suatu senyawa yang berdasarkan pada perbedaan dua distribusi fasa yaitu fasa diam (plat) dan fasa gerak (eluen) (Ruliyanti, 2020). Uji kromatografi lapis tipis dilakukan untuk

penegasan hasil dari skrining fitokimia dengan melihat warna noda yang timbul pada bercak serta membandingkan standar nilai  $R_f$  dan  $hR_f$ .

Sampel diambil merupakan ekstrak yang paling banyak mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu ekstrak etanol daun benalu mahoni. Fase diam yang digunakan adalah plat TLC silika Gel 60 F<sub>254</sub>. Plat ini dipilih dikarenakan mudah untuk digunakan dan bernilai ekonomis.

Plat TLC silika Gel F<sub>254</sub> sebelum digunakan harus diaktifkan terlebih dahulu dengan cara memanaskan plat tersebut ke dalam oven pada suhu 80°C selama 1 jam. Dikarenakan plat silika banyak mengandung air, hal ini dapat memberikan pengaruh yang tidak baik pada hasil pengujian KLT (Rosamah, 2019).

Pemilihan eluen yang sesuai pada pengujian KLT adalah menggunakan metode *try in error*. Dimana harus dilakukan uji coba menggunakan beberapa campuran pelarut dengan perbandingan tertentu diantaranya; kloroform : metil asetat (3:1), Kloroform : methanol (3:1), kloroform : metanol : etil asetat (3:1:1), Etanol : Etil asetat : n-heksana (2:2:6), etil asetat : methanol (5:5), dan n-heksana : etil asetat (5:5). Hasil pemisahan yang paling bagus didapatkan pada plat KLT menggunakan eluen dari campuran N-heksana dan Etil asetat dengan perbandingan yang sama. Hasil plat KLT menunjukkan terdapat 4 noda yang terpisah secara baik. Nilai  $R_f$  dari keempat noda tersebut berturut-turut yaitu; 0,21; 0,27; 0,53; dan 0,6. Hasil uji kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun benalu mahoni dapat dilihat pada **Gambar 4.8** berikut ini.



**Gambar 4. 8** Hasil uji kromatografi lapis tipis ekstrak etanol

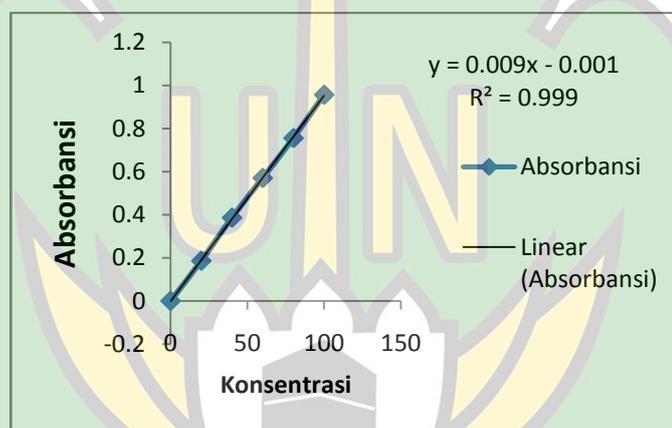
Nilai  $R_f$  identifikasi senyawa terpenoid dengan eluen N-heksana dan etil asetat yaitu 0,20-0,25 (Sri Sulasmi et al., 2018). Nilai  $R_f$  pada noda pertama pada penelitian ini yaitu 0,21 termasuk dalam rentang standar senyawa terpenoid. Noda kedua memiliki harga  $R_f$  senilai 0,27 yang mendekati dengan nilai  $R_f$  dari senyawa Saponin dengan eluen N-heksana: Etil Asetat yaitu adalah 0,29 (Forestryana, 2020). Dyera juga mengatakan bahwa bilangan  $R_f$  dari senyawa flavonoid dengan eluen N-heksana: Etil Asetat adalah 0,54 (Forestryana, 2020). Bilangan ini hampir sama dengan harga  $R_f$  pada noda ketiga.

Selanjutnya bercak noda terakhir memiliki nilai  $R_f$  0,6. Nilai bercak noda termasuk termasuk ke dalam nilai standar  $R_f$  senyawa tannin adalah 0,29-0,85 (Ruliyanti, 2020). Maka dapat disimpulkan bahwa noda tersebut termasuk ke dalam nilai  $R_f$  dari senyawa tannin. Hal ini juga dikuatkan dengan hasil skrining fitokimia dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada larutan sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.8.

## 4.6 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

### a. Pengukuran Absorbansi DPPH

Larutan DPPH dengan 5 variasi konsentrasi diukur absorbansinya untuk mendapatkan kurva kalibrasi dari larutan DPPH sebagai dijadikan acuan konsentrasi DPPH yang digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni dan vitamin C. Adapun kurva kalibrasi dari larutan DPPH dapat dilihat pada **Gambar 4.9**.



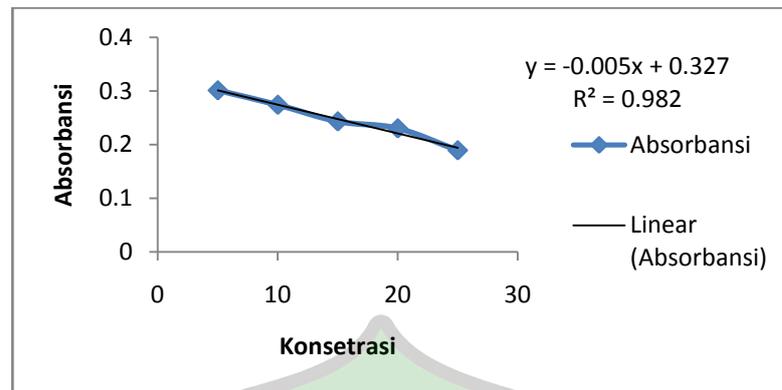
**Gambar 4. 9** Kurva kalibrasi larutan DPPH

### b. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol

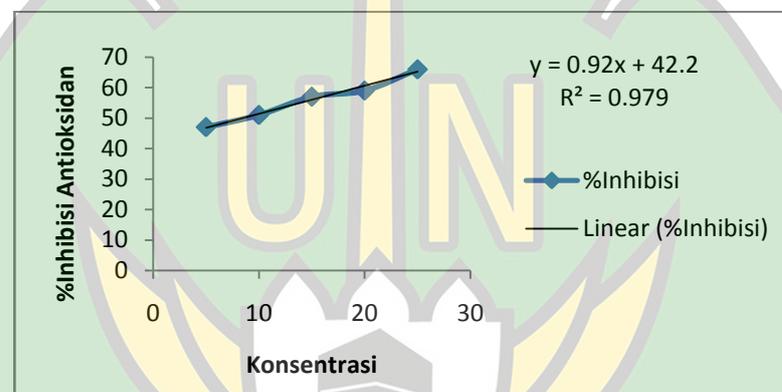
Uji aktivitas antioksidan diukur metode DPPH karena efektif dan mudah dikerjakan untuk mempelajari profil ekstrak tanaman, serta dapat menunjukkan potensi dari suatu sampel (Hartati, 2016). Prinsip senyawa ini adalah mendonorkan satu atom hidrogen pada radikal bebas sehingga DPPH mengalami reduksi dan menjadi senyawa DPPH non-radikal. Perubahan senyawa radikal DPPH menjadi non-radikal ini ditandai dengan berkurangnya warna ungu pada larutan DPPH dengan disertai penurunan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan Spektrofotometer Visibel Genesis-30.

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa ditentukan menggunakan parameter  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  adalah *Inhibition concentration* atau konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal DPPH (Manurung, 2021). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin besar daya peredaman dari suatu senyawa, sebaliknya semakin besar nilai  $IC_{50}$ , daya peredaman radikal bebas suatu senyawa adalah kecil. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari grafik persamaan regresi linier antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman DPPH. Nilai %peredaman atau disebut juga %inhibisi didapatkan dari hasil pengukuran absorbansi larutan uji.

Pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel daun benalu mahoni hanya dilakukan pada ekstrak yang mengandung senyawa metabolit sekunder terbanyak. Ekstrak etanol daun benalu mahoni mengandung metabolit terbanyak dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya. Adapun senyawa metabolit sekunder yang dimiliki ekstrak etanol daun benalu mahoni berdasarkan hasil skrining fitokimia adalah senyawa flavonoid, tannin, saponin, dan steroid. Oleh karena ini uji aktivitas antioksidan dilakukan pada sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni dengan lima variasi konsentrasi, yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Adapun grafik hasil pengukuran absorbansi pada larutan uji ekstrak etanol daun benalu mahoni terdapat pada **Gambar 4.10** dan grafik hasil perhitungan peredaman radikal DPPH oleh senyawa ekstrak etanol daun benalu mahoni dapat dilihat pada **Gambar 4.11** di bawah ini.



**Gambar 4.10** Grafik hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni



**Gambar 4.11** Grafik hubungan antara kosentrasi dengan persen inhibisi senyawa radikal DPPH dari ekstrak etanol daun benalu mahoni

**Gambar 4.10** di atas menjelaskan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi/penyerapan dari ekstrak etanol daun benalu mahoni. Dapat dilihat bahwa nilai absorbansi dari ekstrak etanol semakin menurun dengan adanya kenaikan nilai konsentrasi. Hal ini dikarenakan larutan ekstrak etanol daun benalu mahoni dengan konsentrasi tinggi memiliki daya aktivitas antioksidan yang lebih tinggi sehingga lebih banyak mentransfer atom hidrogen yang menjadikan molekul DPPH menjadi stabil. DPPH yang menjadi non-radikal berdampak pada

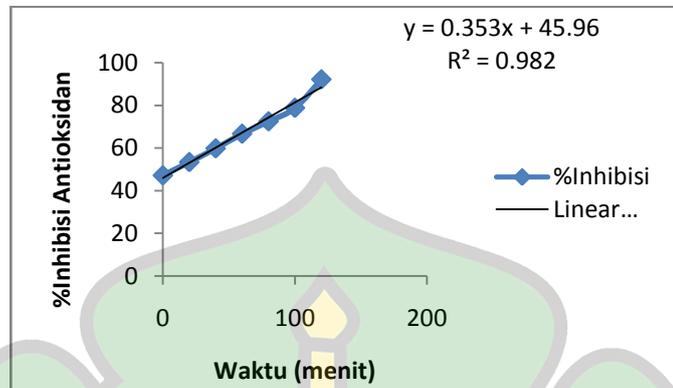
menurunnya warna ungu ungu menjadi kuning dari sampel ekstrak etanol sehingga absorbansi dari larutan uji juga ikut menjadi rendah.

Sebaliknya berbeda dengan **Gambar 4.11**, grafik yang menjelaskan hubungan antara konsentrasi larutan sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni dengan persen peredaman radikal terhadap DPPH itu menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni maka persen inhibisi radikal DPPH juga semakin meningkat. Artinya, ekstrak etanol daun benalu mahoni dengan konsentrasi tinggi memiliki daya peredaman radikal DPPH lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dengan konsentrasi rendah. Konsentrasi ekstrak etanol daun benalu mahoni dengan konsentrasi tinggi memiliki molekul yang kaya akan senyawa antioksidan lebih banyak sehingga dapat menyumbangkan atom hydrogen lebih baik untuk menghambat reaksi radikal bebas. Persen inhibisi dari larutan uji dapat ditentukan melalui persamaan berikut ini (Manurung, 2021).

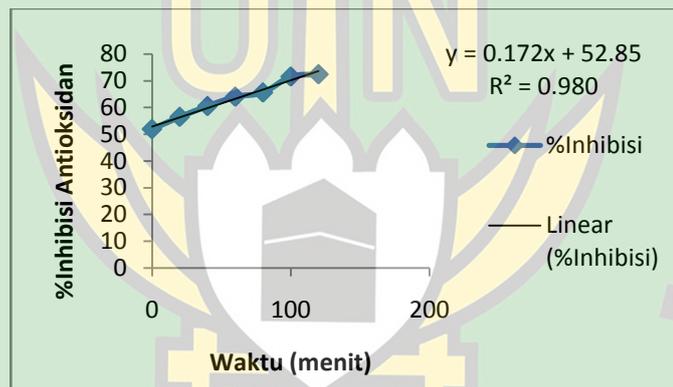
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abskontrol} - \text{AbsSampel}}{\text{Absorbansikontrol}} \times 100\%$$

Pengukuran absorbansi larutan uji tiap variasi konsentrasi dilakukan setiap 20 menit sekali. Hal ini untuk melihat aktivitas peredaman radikal DPPH berdasarkan durasi interaksi antara ekstrak etanol dengan senyawa DPPH. Larutan uji diukur absorbansi pertamanya dari menit ke-0 hingga menit ke-120. Berikut grafik persen inhibisi berdasarkan variasi waktu pengukuran pada ekstrak etanol daun benalu mahoni dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25

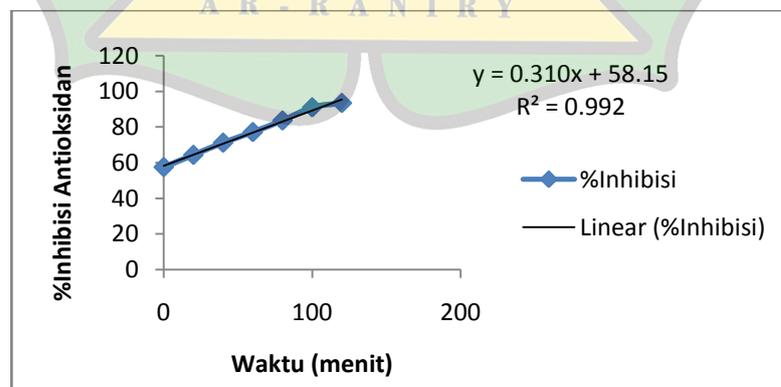
ppm pada **Gambar 4.12**, **Gambar 4.13**, **Gambar 4.14**, **Gambar 4.15**, dan **Gambar 4.16** di bawah ini.



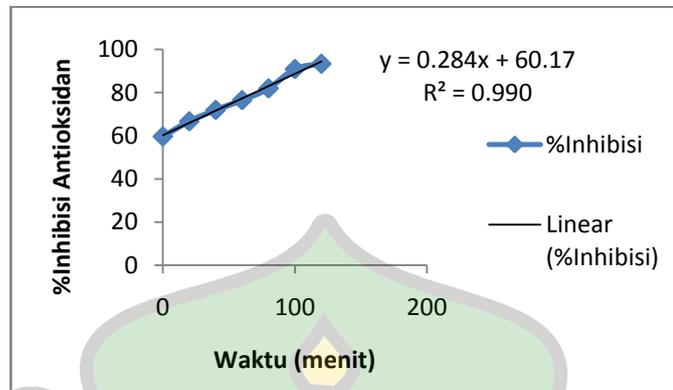
**Gambar 4. 12** Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan persen inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 5 ppm



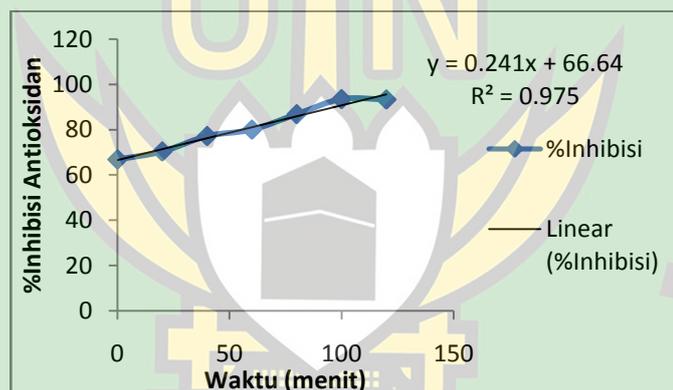
**Gambar 4. 13** Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan persen inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 10 ppm



**Gambar 4. 14** Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan persen inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 15 ppm



**Gambar 4. 15** Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan persen inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 20 ppm



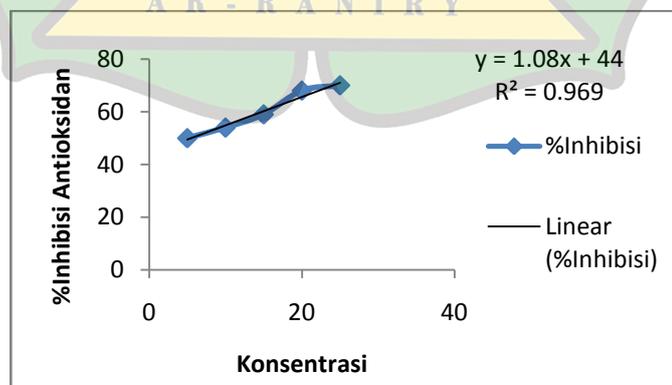
**Gambar 4. 16** Grafik hubungan antara waktu pengukuran dengan persen inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada konsentrasi 25 ppm

Berdasarkan kelima grafik di atas tentang hubungan antara waktu pengukuran dengan persen inhibisi dari ekstrak etanol daun benalu mahoni pada lima variasi konsentrasi menunjukkan bahwa waktu sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sampel ekstrak etanol yang diuji. Dimana persen penghambatan radikal bebas semakin tinggi seiring bertambah waktu pengukuran. Artinya molekul yang terdapat dalam sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni

terus melakukan interaksi transfer atom hydrogen pada radikal DPPH. Aktivitas bahkan berlanjut sampai di menit ke-120.

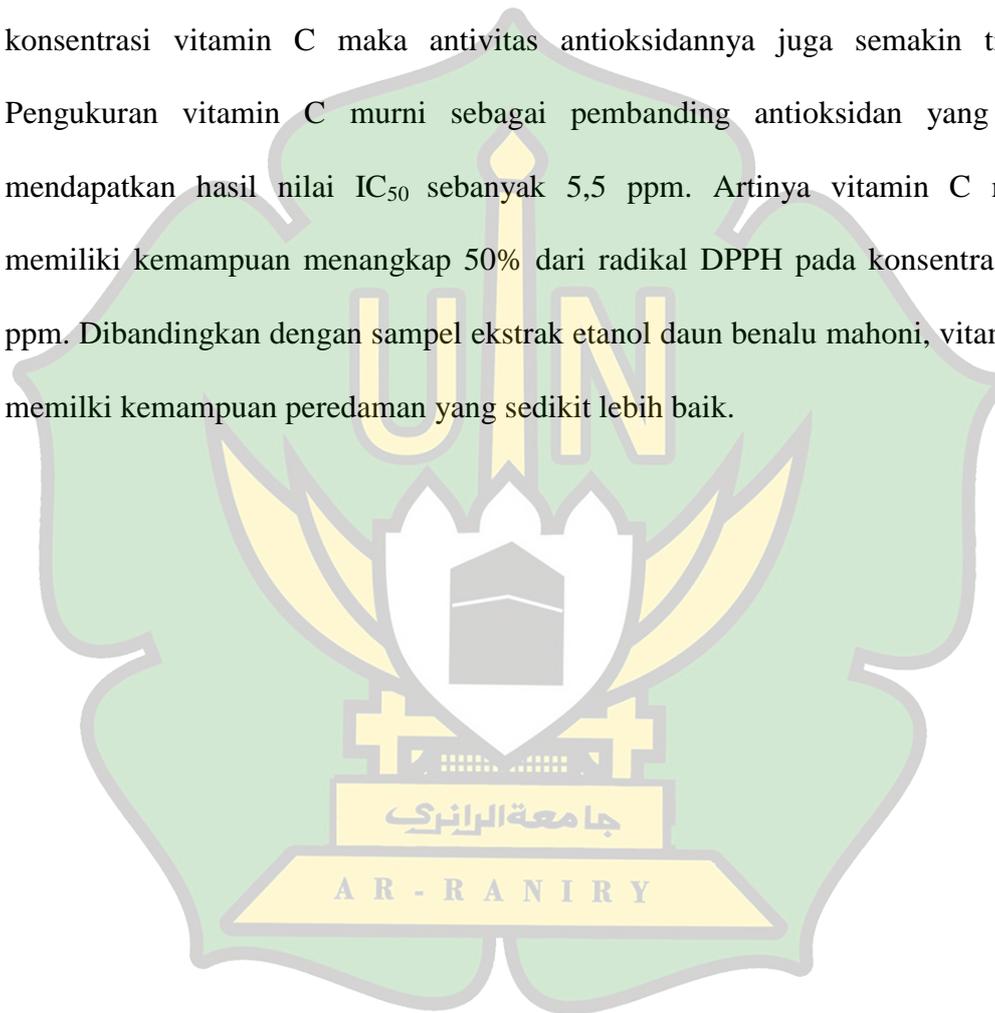
Adapun nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol daun benalu mahoni ditentukan dari persamaan regresi linear antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman radikal DPPH. Persamaan regresi linearnya adalah  $y = 0.92x + 42.2$ . Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dengan memasukkan angka 50 sebagai y dan x adalah nilai  $IC_{50}$ . Hasil yang diperoleh adalah ekstrak etanol daun benalu mahoni memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 8,47 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun benalu mahoni memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dikarenakan semakin kecil nilai  $IC_{50}$  dari suatu senyawa maka semakin kuat daya peredaman radikal bebasnya. Artinya ekstrak etanol daun benalu mahoni mampu menangkal 50% dari radikal bebas pada konsentrasi 8,47 ppm.

Sebagai pembandingan nilai  $IC_{50}$  dari senyawa antioksidan yang baik, dilakukan pengujian pada vitamin C murni. Hasil pengukuran persen inhibisi antioksidan vitamin C terdapat pada **Gambar 4.17**.



**Gambar 4. 17** Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persen inhibisi antioksidan dari Vitamin C

Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persen inhibisi antioksidan dari Vitamin C di atas menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas pada senyawa DPPH oleh molekul vitamin C. Terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi vitamin C maka aktivitas antioksidannya juga semakin tinggi. Pengukuran vitamin C murni sebagai pembanding antioksidan yang baik mendapatkan hasil nilai  $IC_{50}$  sebanyak 5,5 ppm. Artinya vitamin C murni memiliki kemampuan menangkap 50% dari radikal DPPH pada konsentrasi 5,5 ppm. Dibandingkan dengan sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni, vitamin C memiliki kemampuan peredaman yang sedikit lebih baik.



## **BAB V**

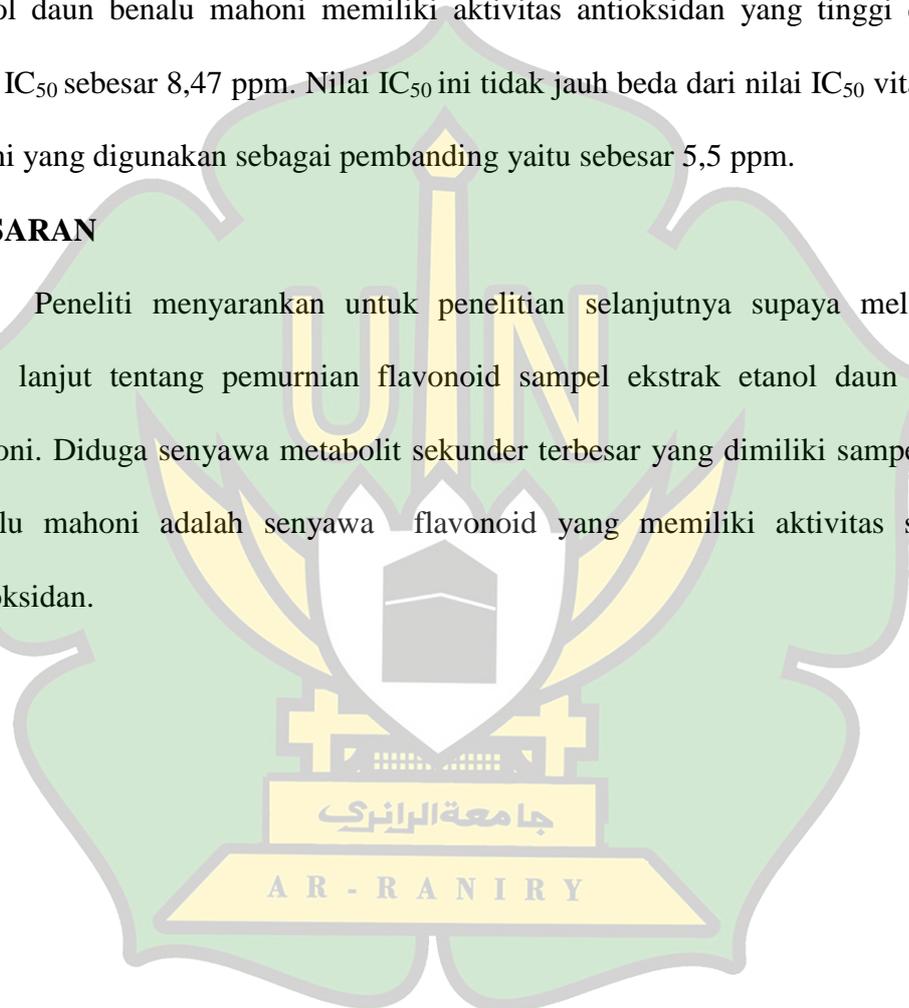
### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian, maka diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun benalu mahoni memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 8,47 ppm. Nilai  $IC_{50}$  ini tidak jauh beda dari nilai  $IC_{50}$  vitamin C murni yang digunakan sebagai pembanding yaitu sebesar 5,5 ppm.

#### **5.2 SARAN**

Peneliti menyarankan untuk penelitian selanjutnya supaya melakukan studi lanjut tentang pemurnian flavonoid sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni. Diduga senyawa metabolit sekunder terbesar yang dimiliki sampel daun benalu mahoni adalah senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Amin, Saiful., Utami, F., Maulidya, S. (2021). *Skrining Virtual Senyawa Flavonoid sebagai Inhibitor Main Protease untuk Kandidat Anti-SARS-COV-2*. Yogyakarta: Deepublish.
- Arief Hariana. (2013). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya.
- Arifin, B., Ibrahim, S., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. (2018). Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. Structure, Bioactivity and Antioxidan of Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Ayyappadhas R, Nelson, K., Dayana, N., & Dhana Lekshmi, U. M. (2012). Preliminary studies on antimicrobial activity of Swietenia macrophylla leaf extract. *Article in International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 16(2), 1–4. <https://www.researchgate.net/publication/288380933>
- Chopipah, S., Sumiati Solihat, S., Nuraeni, E., Sultan Maulana Hasanuddin Banten Jl Syech Nawawi Al Bantani Kp Andamu, N., Sukawana, K., & Curug, K. (2021). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid pada Daun Benalu, Katuk, Johar, dan Kajajahi: Review Antioxidant activity of flavonoid compounds in benalu, katuk, johar, and kajajahi leaves: A review. In *Tropical Bioscience: Journal of Biological Science* (Vol. 1, Issue 2).
- Dwi, A., Madjid, R., Rahmawati, D. A., & Ghanaim Fasya, A. (2020). Variasi Komposisi Eluen pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucheuma cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *ALCHEMY: JOURNAL OF CHEMISTRY*, 8(1), 35–40.
- Endharti, A. T., Wulandari, A., Listyana, A., Norahmawati, E., & Permana, S. (2016). Dendrophthoe pentandra (L.) Miq extract effectively inhibits inflammation, proliferation and induces p53 expression on colitis-associated colon cancer. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1345-0>
- Fakhriah. (2019). Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan Alami bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi*, 3(1), 1–5.
- Forestryana, D. (2020). Jurnal Ilmiah Farmako Bahari Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis of Ethanol Extract Jeruju Leaf (Hydrolea Spinosa L.) Article History. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113–124. [www.journal.uniga.ac.id](http://www.journal.uniga.ac.id)
- Harbone, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.

- Hartati, D. S. (2016). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Benalu (Scurrula Atropurpurea (Bl.) Denser) yang Tumbuh pada Inang Rambutan dengan Metode DPPH*. Universitas Islam Indonesia.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Universitas Islam Indonesia.
- Karim, F., Susilawati, S., Oswari, L. D., Dzakiyah, D., & Anindita, F. (2020). Uji Aktivitas Antidiabetes Akar Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava*). *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 7(3), 35–40. <https://doi.org/10.32539/jkk.v7i3.10190>
- Khairunnisa, N. (2017). *Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Daun Zaitun (Olea Europaea L.) Menggunakan Pelarut Air dengan Metode DPPH*. UIN Syarif Hidayatullah.
- Khunaif, M. (2010). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa* [UIN Maulana Malik Ibrahim]. <http://www.plantamor.com.adalah>
- K.R. Markham. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB.
- Kristanti, A. N. (2019). *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press.
- Leny Puspitasari, M., Wulansari, T. V., Widyaningsih, T. D., Maligan, J. M., Ida, N., & Nugrahini, P. (2016). Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) dan Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*): Kajian Pustaka Antioxidant Activity Herbal Supplements of Soursop Leaf (*Annona muricata L.*) and Pericarp of Mangosteen (*Garcinia mangostana L.*): A Review. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 283–290.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & 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. <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>
- Manurung, H. (2021). *Tabat Barito (Ficus deltoidea Jack): Kajian Budidaya Kandungan Metabolit Sekunder Bio-Aktivitas Prospek Fitofarmakologis*. Deepublish.
- Murray, Robert K., dkk. (2003). *Happer's Biochemistry*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Novi Yanty, Y., Selpia Sopianti, D., & Veronica Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu, C. (2019). Fraksinasi dan Skrining Fraksi Biji Kebiul (*Caesalpinia Bonduc (L) Roxb*) dengan Metode Klt (Kromatografi Lapis Tipis) Fraction

and Screening of Fresh Seed (*Caesalpinia Bonduc* (L) Roxb Seeds With KLT Method (Thin Latic Chromatography). *Borneo Journal of Phamascientech*, 03(01).

Nurzaman, F., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2018). Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 85–93. <https://doi.org/10.22435/jki.v8i2.325>

Oktavia Dan, F. D. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. In *Sutoyo Jurnal Kimia Riset* (Vol. 6, Issue 2).

Pitojo, S. (2019). *Bertanam dan Pascapanen Mahoni*. CV Aneka Ilmu.

Pratiwi Putri, D., Melya Riniarti, dan, Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, J., Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Lampung Jl Sumantri Brojonegoro, J., Meneng, G., & Lampung, B. (2021). Level of Association of Epiphyte Plant Species with Their Host Trees at Collection Block of Wan Abdul Rachman Great Forest Park. In *Jurnal Hutan Tropis* (Vol. 9, Issue 2). Cetak.

Rafii, A. M. (2017). Identification of Drug Plants Which The Community Is Useful Tabo-Tabo Forests Education and Training South Sulawesi. *Jurnal Agrisistem*, 13(1).

Redaksi Trubus. (2019). *Inilah Khasiat Benalu*. Trubus Swadaya.

Redaksi Trubus. (2021). *Benalu Tumpas Parasit*. PT Trubus Swadaya.

Reza, M. (2021). *Kimia Analisa Instrumen*. Laboratorium Kimia FTK

R.Ghozally, F. (2010). *Mengenal Obat Tradisional*. Multi Kreasi Satudelapan.

Rosamah, E. (2019). *Kromatografi Lapis Tipis: Metode Sederhana dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*. Mulawarman University Press.

Ruliyanti, E. (2020). *Perbandingan Profil Kromatografi Lapis Tipis Pada Ekstrak Daun, Biji Dan Bunga Pepaya ( Carica Papaya L.)*. Politeknik Harapan Bersama Tegal.

Santoso, U. (2016). *Aktioksidan Pangan*. Gadjah Mada University Press.

Sari, Dian Ekawati., dkk. (2021). *Senyawa Tumbuhan Metabolit Sekunder Agen Pengendali Organisme Pengganggu Tumbuhan*. Yogyakarta: Bintang Pustaka Madani.

- Setianingrum, R. (2012). *Uji Kemamfaatan Ekstrak Etanol Biji Mahoni (Swietenia mahagony Jacq) sebagai Antioksidan terhadap Stres Fisik Tikus Wistar Jantan (Rattus norvegicus)*. Universitas Jember.
- Sri Sulasmi, E., Rindiyanti Febrina Tetiyo Putri, L., Sapta Sari, M., & Suhadi Juriusan. (2018). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Terpenoid pada Tumbuhan Paku Pseudocyclosorus ochthodes (Kunze) Holttum, Drypteris hirtipes (Bl.) Kuntze, Phymatodes scolopendria (Burm.) Ching, Pteris vittata L. dan Stenochlaena palustris (Burm.) Beddome di Taman Nasional Baluran. *Prosiding Seminar Nasional VI Hayati*, 138–143.
- Suparno, Teddy. (2019). *Arthropoda Herbivora: Interaksinya dengan Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: Deepublish.
- Techinamuti, N., & Pratiwi, R. (2018). Review: Metode Analisis Kadar Vitamin C. *Farmaka Suplemen*, 16(2), 309–315.
- Tutik, I Nyoman Agus Dwipayana, & Vida Elsyana. (2018). Identifikasi dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor pada Variasi Pelarut dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 1(2), 80–87.
- Widyasanti, A., Maulfia, D. N., & Rohdiana, D. (2019). Karakteristik Mutu Ekstrak The Putih (Camellia sinensis) yang Dihasilkan dari Metode Maseri Bertingkat dengan Pelarut N-Heksana, Aseton 70%, dan Etanol 96%. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 8(4), 293–299.
- Yasjudani. (2017). *Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (Swietenia Mahagoni L.) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen Skripsi*. UIN Alauddin Makassar.
- Yulian, M., Safrijal, D., Tarbiyah, F., Uin, K., & Aceh, A.-R. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Daun Benalu Kopi (Loranthus Ferrugineus Roxb.) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). In *Lantanida Journal* (Vol. 6, Issue 2).
- Yuningsih, R. (2022). *Pengobatan Tradisional di Unit Pelayanan Kesehatan*.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Perhitungan %Rendemen

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

#### A. %Rendemen Ekstrak N-heksana

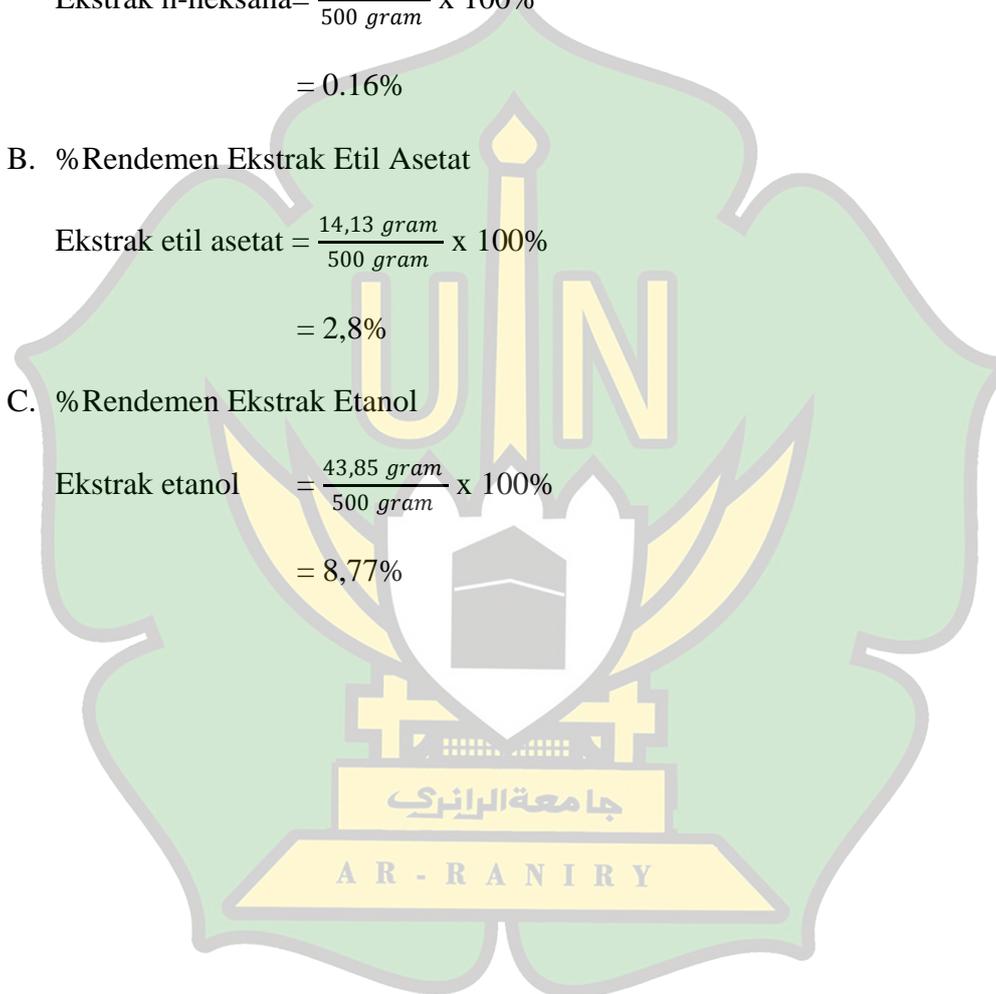
$$\begin{aligned} \text{Ekstrak n-heksana} &= \frac{0,84 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 0,16\% \end{aligned}$$

#### B. %Rendemen Ekstrak Etil Asetat

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak etil asetat} &= \frac{14,13 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,8\% \end{aligned}$$

#### C. %Rendemen Ekstrak Etanol

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak etanol} &= \frac{43,85 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 8,77\% \end{aligned}$$



## Lampiran 2 Pembuatan Larutan

### A. Pembuatan Larutan DPPH

$$\text{Ppm} : \frac{\text{massa (mg)}}{\text{volume (L)}}$$

$$100 \text{ ppm} : \frac{\text{massa (mg)}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{massa} : 100 \text{ ppm} \times 0,1 \text{ L}$$

$$: 10 \text{ mg}$$

DPPH diambil dan ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan 100 ml methanol dalam labu ukur 100 ml.

### B. Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Daun Benalu Mahoni

$$\text{Ppm} : \frac{\text{massa (mg)}}{\text{volume (L)}}$$

$$100 \text{ ppm} : \frac{\text{massa (mg)}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{massa} : 100 \text{ ppm} \times 0,1 \text{ L}$$

$$: 10 \text{ mg}$$

Ekstrak etanol daun benalu mahoni ditimbang sebanyak 10 mg selanjutnya dilarutkan dengan 100 ml methanol dalam labu ukur 100 ml.

### C. Pembuatan Larutan Vitamin C

$$\text{Ppm} : \frac{\text{massa (mg)}}{\text{volume (L)}}$$

$$100 \text{ ppm} : \frac{\text{massa (mg)}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{massa} : 100 \text{ ppm} \times 0,1 \text{ L}$$

$$: 10 \text{ mg}$$

Serbuk vitamin C sebanyak 10 mg ditimbang dengan timbangan analitik dan dilarutkan dengan 100 ml methanol di dalam labu ukur 100 ml.



### Lampiran 3 Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan DPPH

#### A. Konsentrasi 20 ppm

$$V_1 \times M_1 : V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} : 50 \text{ ml} \times 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 : \frac{1000 \text{ ml}}{100}$$

$$: 10 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan DPPH 50 ml dengan konsentrasi 20 ppm diambil sebanyak 10 ml larutan DPPH 100 ppm.

#### B. Konsentrasi 40 ppm

$$V_1 \times M_1 : V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} : 50 \text{ ml} \times 40 \text{ ppm}$$

$$V_1 : \frac{2000 \text{ ml}}{100}$$

$$: 20 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan DPPH 50 ml dengan konsentrasi 40 ppm diambil sebanyak 20 ml larutan DPPH 100 ppm.

#### C. Konsentrasi 60 ppm

$$V_1 \times M_1 : V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} : 50 \text{ ml} \times 60 \text{ ppm}$$

$$V_1 : \frac{3000 \text{ ml}}{100}$$

$$: 30 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan DPPH 50 ml dengan konsentrasi 60 ppm diambil sebanyak 30 ml larutan DPPH 100 ppm.

## D. Konsentrasi 80 ppm

$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 50 \text{ ml} \times 80 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{4000 \text{ ml}}{100}$$

$$: 40 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan DPPH 50 ml dengan konsentrasi 80 ppm diambil sebanyak 40 ml larutan DPPH 100 ppm.



#### Lampiran 4 Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Ekstrak Etanol

##### A. Konsentrasi 5 ppm

$$V_1 \times M_1 : V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} : 10 \text{ ml} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 : \frac{50 \text{ ml}}{100}$$

$$: 0,5 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan ekstrak etanol 10 ml dengan konsentrasi 5 ppm diambil sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak etanol 100 ppm.

##### B. Konsentrasi 10 ppm

$$V_1 \times M_1 : V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} : 10 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 : \frac{100 \text{ ml}}{100}$$

$$: 1,0 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan ekstrak etanol 10 ml dengan konsentrasi 10 ppm diambil sebanyak 1,0 ml larutan ekstrak etanol 100 ppm.

##### C. Konsentrasi 15 ppm

$$V_1 \times M_1 : V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} : 10 \text{ ml} \times 15 \text{ ppm}$$

$$V_1 : \frac{150 \text{ ml}}{100}$$

$$: 1,5 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan ekstrak etanol 10 ml dengan konsentrasi 15 ppm diambil sebanyak 1,5 ml larutan ekstrak etanol 100 ppm.

## D. Konsentrasi 20 ppm

$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 10 \text{ ml} \times 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{200 \text{ ml}}{100}$$

$$: 2,0 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan ekstrak etanol 10 ml dengan konsentrasi 20 ppm diambil sebanyak 2,0 ml larutan ekstrak etanol 100 ppm.

## E. Konsentrasi 25 ppm

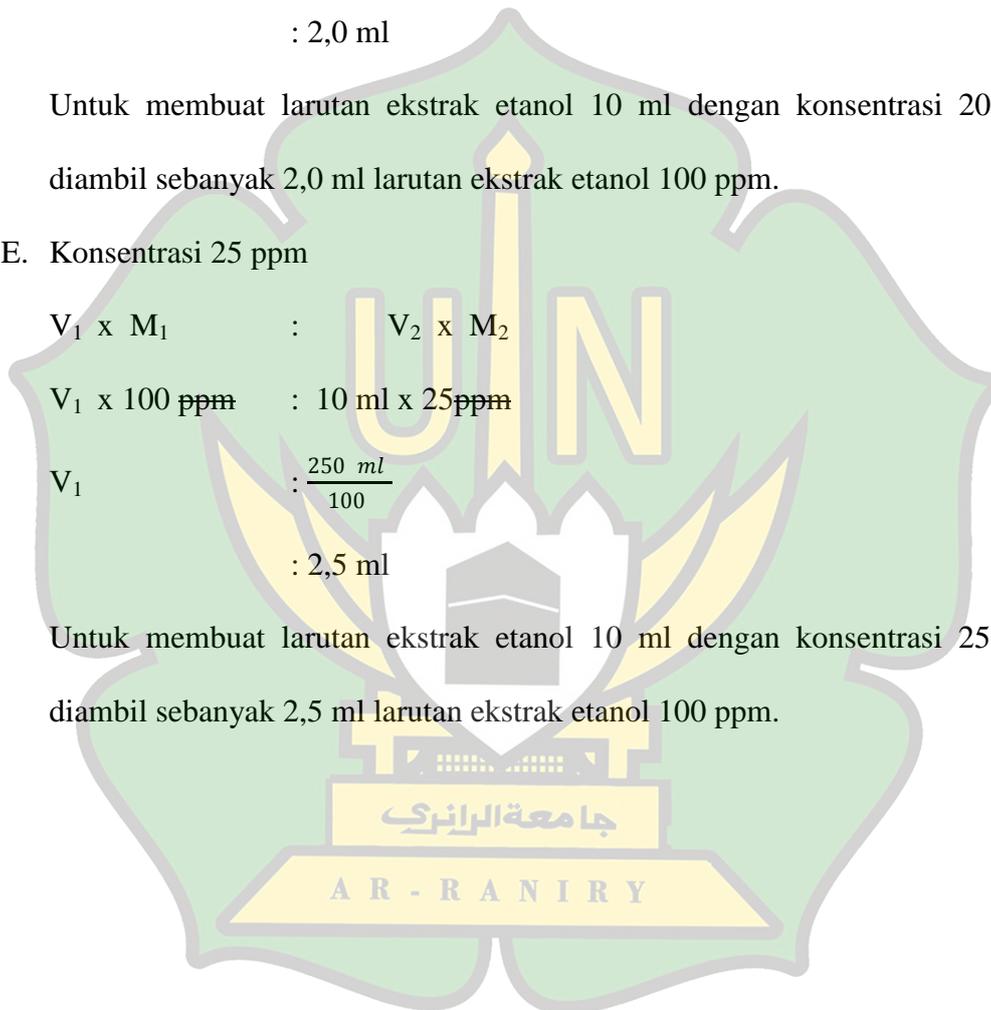
$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 10 \text{ ml} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{250 \text{ ml}}{100}$$

$$: 2,5 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan ekstrak etanol 10 ml dengan konsentrasi 25 ppm diambil sebanyak 2,5 ml larutan ekstrak etanol 100 ppm.



### Lampiran 5 Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Vitamin C

#### A. Konsentrasi 5 ppm

$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 10 \text{ ml} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{50 \text{ ml}}{100}$$

$$: 0,5 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan vitamin C 10 ml dengan konsentrasi 5 ppm diambil sebanyak 0,5 ml larutan vitamin C 100 ppm.

#### B. Konsentrasi 10 ppm

$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 10 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{100 \text{ ml}}{100}$$

$$: 1,0 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan vitamin C 10 ml dengan konsentrasi 10 ppm diambil sebanyak 1,0 ml vitamin C etanol 100 ppm.

#### C. Konsentrasi 15 ppm

$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 10 \text{ ml} \times 15 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{150 \text{ ml}}{100}$$

$$: 1,5 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan vitamin C 10 ml dengan konsentrasi 15 ppm diambil sebanyak 1,5 ml larutan vitamin C 100 ppm.

## D. Konsentrasi 20 ppm

$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 10 \text{ ml} \times 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{200 \text{ ml}}{100}$$

$$: 2,0 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan vitamin C 10 ml dengan konsentrasi 20 ppm diambil sebanyak 2,0 ml larutan vitamin C 100 ppm.

## E. Konsentrasi 25 ppm

$$V_1 \times M_1 \quad : \quad V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} \quad : \quad 10 \text{ ml} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 \quad : \quad \frac{250 \text{ ml}}{100}$$

$$: 2,5 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan vitamin C 10 ml dengan konsentrasi 25 ppm diambil sebanyak 2,5 ml larutan vitamin C 100 ppm.

### Lampiran 6 Perhitungan Nilai $R_f$

A. Jarak tempuh noda pertama : 1,7 cm

$$\text{Bilangan } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempu h noda}}{\text{Jarak yang ditempu h eluen}}$$

$$= \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}}$$

$$= 0,21$$

$$hR_f = R_f \times 100$$

$$= 21$$

B. Jarak tempuh tempuh noda kedua : 2,2 cm

$$\text{Bilangan } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempu h noda}}{\text{Jarak yang ditempu h eluen}}$$

$$= \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}}$$

$$= 0,27$$

$$hR_f = R_f \times 100$$

$$= 27$$

C. Jarak tempuh noda ketiga : 4,25 cm

$$\text{Bilangan } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempu h noda}}{\text{Jarak yang ditempu h eluen}}$$

$$= \frac{4,25 \text{ cm}}{8 \text{ cm}}$$

$$= 0,53$$

$$hR_f = R_f \times 100$$

$$= 53$$

D. Jarak tempuh noda keempat : 4,8 cm

$$\text{Bilangan } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempu h noda}}{\text{Jarak yang ditempu h eluen}}$$

$$= \frac{4,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}}$$

$$= 0,6$$

$$hRf = R_f \times 100$$

$$= 60$$



### Lampiran 7 Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} : \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

#### A. % Inhibisi sampel ekstrak etanol daun benalu mahoni

##### 1. Sampel konsentrasi 5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-0} : \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,301}{0,57} \times 100\%$$

$$: 47,19\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-20} : \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,26}{0,57} \times 100\%$$

$$: 53,38\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-40} : \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,229}{0,57} \times 100\%$$

$$: 59,82\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-60} : \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,19}{0,57} \times 100\%$$

$$: 66,66\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-80} : \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,157}{0,57} \times 100\%$$

$$: 72,45\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-100: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,121}{0,57} \times 100\%$$

$$: 78,77\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-120: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,045}{0,57} \times 100\%$$

$$: 92,10\%$$

## 2. Sampel konsentrasi 10 ppm

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-0: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,274}{0,57} \times 100\%$$

$$: 51,92\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-20: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,248}{0,57} \times 100\%$$

$$: 56,49\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-40: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,225}{0,57} \times 100\%$$

$$: 60,52\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-60: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,205}{0,57} \times 100\%$$

$$: 64,03\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-80: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,196}{0,57} \times 100\%$$

$$: 65,61\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-100: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,162}{0,57} \times 100\%$$

$$: 71,57\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-120: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,157}{0,57} \times 100\%$$

$$: 72,45\%$$

### 3. Sampel konsentrasi 15 ppm

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-0: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,243}{0,57} \times 100\%$$

$$: 57,36\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-20: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,204}{0,57} \times 100\%$$

$$: 64,21\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-40: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,165}{0,57} \times 100\%$$

$$: 71,05\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-60: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,131}{0,57} \times 100\%$$

$$: 77,0\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-80: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,094}{0,57} \times 100\%$$

$$: 83,5\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-100: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,052}{0,57} \times 100\%$$

$$: 90,87\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-120: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,038}{0,57} \times 100\%$$

$$: 93,33\%$$

#### 4. Sampel konsentarsi 20 ppm

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-0: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,23}{0,57} \times 100\%$$

$$: 59,64\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-20: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,19}{0,57} \times 100\%$$

$$: 66,66\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-40: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,16}{0,57} \times 100\%$$

$$: 71,92\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-60: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,134}{0,57} \times 100\%$$

$$: 76,49\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-80: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,103}{0,57} \times 100\%$$

$$: 81,92\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-100: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,52}{0,57} \times 100\%$$

$$: 90,87\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-120: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,038}{0,57} \times 100\%$$

$$: 93,33\%$$

##### 5. Sampel konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-0 : } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,189}{0,57} \times 100\%$$

$$: 66,84\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-20: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,169}{0,57} \times 100\%$$

$$: 70,35\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-40: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,013}{0,57} \times 100\%$$

$$: 77,19\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-60: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,011}{0,57} \times 100\%$$

$$: 80,0\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-80: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,0756}{0,57} \times 100\%$$

$$: 86,84\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-100: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,037}{0,57} \times 100\%$$

$$: 93,50\%$$

$$\% \text{ Inhibisi menit ke-120: } \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

$$: \frac{0,57 - 0,038}{0,57} \times 100\%$$

$$: 93,33\%$$

B. % Inhibisi larutan vitamin C

1. % Inhibisi konsentrasi 5 ppm :  $\frac{Abs\ kontrol - Absorbansi\ sampel}{Abs\ kontrol} \times 100\ %$

$$: \frac{0,57 - 0,29}{0,57} \times 100\%$$

$$: 50\%$$

2. % Inhibisi konsentrasi 10 ppm:  $\frac{Abs\ kontrol - Absorbansi\ sampel}{Abs\ kontrol} \times 100\ %$

$$: \frac{0,57 - 0,26}{0,57} \times 100\%$$

$$: 54\%$$

3. % Inhibisi konsentrasi 15 ppm:  $\frac{Abs\ kontrol - Absorbansi\ sampel}{Abs\ kontrol} \times 100\ %$

$$: \frac{0,57 - 0,23}{0,57} \times 100\%$$

$$: 59\%$$

4. % Inhibisi konsentrasi 20 ppm:  $\frac{Abs\ kontrol - Absorbansi\ sampel}{Abs\ kontrol} \times 100\ %$

$$: \frac{0,57 - 0,18}{0,57} \times 100\%$$

$$: 68\%$$

5. % Inhibisi konsentrasi 25 ppm:  $\frac{Abs\ kontrol - Absorbansi\ sampel}{Abs\ kontrol} \times 100\ %$

$$: \frac{0,57 - 0,17}{0,57} \times 100\%$$

$$: 70\%$$

## Lampiran 8 Dokumentasi



Daun benalu mahoni segar



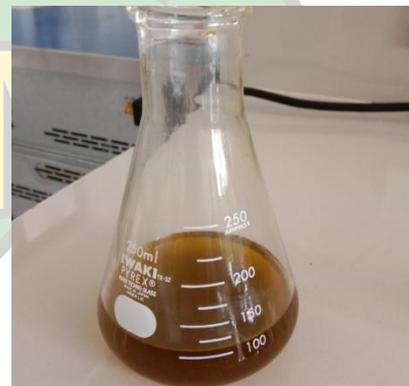
Daun benalu mahoni kering



Simplisia daun benalu mahoni



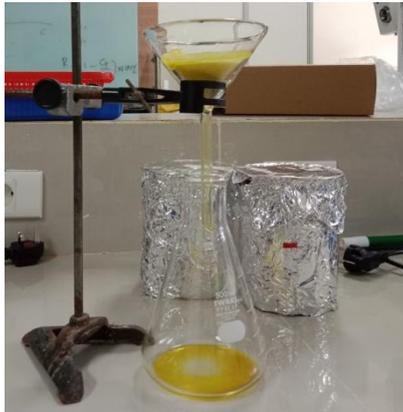
Wadah maserasi



Filtrat hasil maserasi



Proses penyaringan filtrat



Penyaringan filtrat N-heksana



Persiapan kromatografi kolom cair



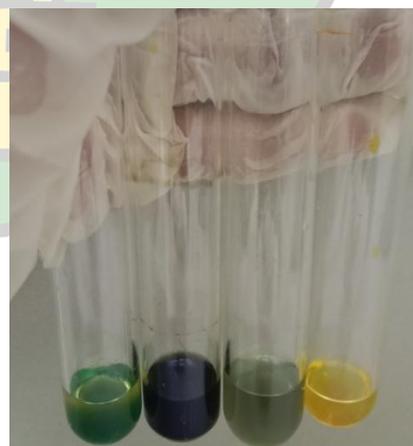
*Rotary evaporator*: alat pemekatan filtrat



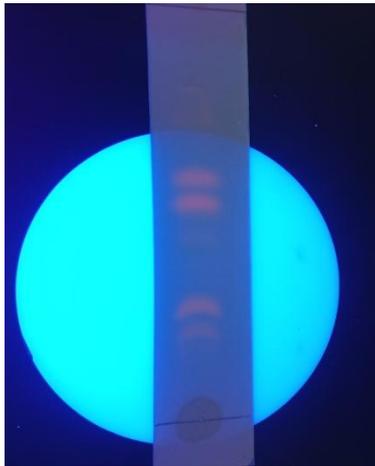
Proses kromatografi kolom cair



Esktrak pekat hasil rotari evaporasi



Skrining fitokimia



Hasil Uji KLT



Series konsentrasi larutan sampel uji



DPPH 10 mg



Spektrofotometer Visibel Genesys-30



Larutan sampel dan DPPH



Tampilan screen Spektrofotometer Visibel Genesys-3