

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SUBFRAKSI ETIL ASETAT TANAMAN
DAUN KECAPI (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) DENGAN
METODE DPPH**

**Skripsi
Untuk Melengkapi Syarat-syarat guna Memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi**

**Disusun oleh:
Sriyanti
1504015397**

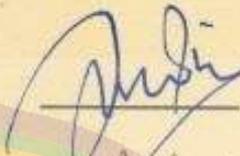
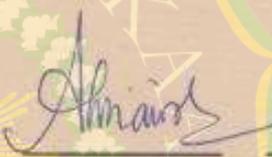


**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020**

Skripsi dengan Judul

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SUBFRAKSI ETIL ASETAT TANAMAN
DAUN KECAPI (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) DENGAN
METODE DPPH**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Sriyanti, NIM 1504015397

	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua Wakil Dekan I Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt.		7/10/20
Penguji I Vera Ladeska, M.Farm., Apt.		9/4-20
Penguji II Almawati Situmorang, M.Farm., Apt.		3/4-20
Pembimbing I Hariyanti, M.Si., Apt.		17/4-20
Pembimbing II Landyyun Rahmawan Sjahid, M.Sc., Apt.		17/7-20
Mengetahui:		
Ketua Program Studi Kori Yati, M.Farm., Apt.		16/10-21

Dinyatakan lulus pada tanggal: **20 Februari 2020**

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SUBFRAKSI ETIL ASETAT TANAMAN DAUN KECAPI (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) DENGAN METODE DPPH

Sriyanti

1504015397

Di Indonesia tanaman kecap (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) digunakan sebagai obat tradisional yaitu sebagai obat diare, sakit mata, obat panas, keputihan dan obat batuk. Daun kecap mengandung senyawa flavonoid dan fenolik yang telah terbukti memberikan efek antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dalam subfraksi etil asetat daun kecap. Proses subfraksi dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan metode *Step Gradient Polarity* (SGP) menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, metanol. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan menggunakan pembanding kuersetin. Hasil kromatografi kolom didapat 4 subfraksi, yang dibedakan berdasarkan gabungan nilai *R_f* yang sama pada pengujian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Pada subfraksi 1 dan subfraksi 4 tidak menimbulkan bercak sehingga tidak dilakukan uji. Nilai *IC*₅₀ pada subfraksi 2 sebesar 67,8459 µg/ml dan subfraksi 3 mendapatkan nilai *IC*₅₀ sebesar 70,5126 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa subfraksi 2 dan subfraksi 3 memiliki aktivitas antioksidan kuat.

Kata kunci: Aktivitas Antioksidan, Daun Kecapi, Subfraksi Etil Asetat, DPPH.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, penulis memanjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah dan keridhaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi, dengan judul: **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SUBFRAKSI ETIL ASETAT TANAMAN DAUN KECAPI (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) DENGAN METODE DPPH**

Penulisan skripsi ini disusun untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi dan Farmasi Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis mendapat bantuan, bimbingan, dan nasehat dari semua pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA.
2. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm., selaku Ketua Program Studi Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA.
3. Ibu apt. Vivi Anggia, M.Farm., selaku Pembimbing Akademik selama penulisan mengikuti perkuliahan di kampus, yang selalu memberikan motivasi dalam menyelesaikan studi di FFS UHAMKA.
4. Ibu apt. Hariyanti, M.Si., dan Bapak apt. Landyyun Rahmawan Sjahid, M.Sc., selaku Pembimbing I dan Pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan serta ilmunya dan mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
5. Bapak dan Ibu dosen FFS UHAMKA yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama penulis mengikuti perkuliahan.
6. Keluarga tercinta atas doa dan semangatnya kepada penulis, baik secara moril maupun materi.
7. Kelompok penelitian yang telah bekerja sama dan memberikan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi serta semua pihak pendukung lainnya yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan keterbatasan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Jakart, Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Hlm
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Landasan Teori	3
1. Tanaman Kecapi (<i>Sandoricum koetjape</i> (Burm.f.) Merr.)	3
2. Simplisia, Ekstraksi, dan Ekstrak	4
3. Fraksinasi	6
4. Subfraksi	6
5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	6
6. Kuersetin	7
7. Radikal Bebas dan Antioksidan	7
8. Metode DPPH (<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>)	9
9. Spektrofotometer UV-Vis	9
B. Kerangka Berpikir	10
C. Hipotesis	10
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	11
A. Tempat dan Waktu Penelitian	11
B. Metode Penelitian	11
C. Pola Penelitian	11
D. Prosedur Penelitian	12
1. Pengumpulan Bahan	12
2. Determinasi Tanaman	12
3. Pembuatan Serbuk Simplisia	12
4. Ekstraksi	12
5. Fraksinasi	13
6. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak dan Fraksi	13
7. Uji Kandungan Kimia Ekstrak dan Fraksi	14
8. Subfraksi	15
9. Uji Aktivitas Antioksidan	16
10. Perhitungan Aktivitas Antioksidan	17

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	19
	A. Pengumpulan Bahan	19
	B. Determinasi Tanaman	19
	C. Pembuatan Serbuk Simplisia	19
	D. Ekstraksi	19
	E. Fraksinasi	20
	F. Karakteristik Serbuk, Ekstrak, dan Fraksi	21
	G. Uji Kandungan Kimia Ekstrak dan Fraksi	22
	H. Subfraksi	23
	I. Aktivitas Antioksidan	25
BAB V	SIMPULAN DAN SARAN	27
	A. Simpulan	27
	B. Saran	27
	DAFTAR PUSTAKA	28
	LAMPIRAN	31



DAFTAR TABEL

	Hlm
Tabel 1. Kekuatan Antioksidan	9
Tabel 2. Uji Kandungan Kimia Fraksi	15
Tabel 3. Hasil Ekstraksi Daun Kecapi	20
Tabel 4. Hasil Fraksinasi	21
Tabel 5. Karakteristik Serbuk dan Ekstrak	21
Tabel 6. Karakteristik Fraksi	22
Tabel 7. Hasil Uji Kandungan Kimia Ekstrak dan Fraksi	22
Tabel 8. Hasil Subfraksi	24
Tabel 9. Hasil Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH	26



DAFTAR GAMBAR

	Hlm
Gambar 1. Tanaman Kecapi (<i>Sandoricum koetjape</i> (Burm.f.) Merr.)	3
Gambar 2. Struktur Kimia Kuersetin	7
Gambar 3. Hasil Kualitatif Subfraksi Aktivitas Antioksidan dengan DPPH 0,1 mM	25
Gambar 4. Hasil Susut Pengeringan	35



DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm
Lampiran 1. Skema Pola Penelitian	31
Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi	32
Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Kecapi	33
Lampiran 4. Hasil Susut Pengeringan dan Kadar Abu	34
Lampiran 5. Skema Fraksinasi	36
Lampiran 6. Hasil Uji Kandungan Kimia Ekstrak dan Fraksi	37
Lampiran 7. Skema Subfraksi	45
Lampiran 8. Perhitungan Rendemen	46
Lampiran 9. Subfraksi	47
Lampiran 10. Perhitungan Aktivitas Antioksidan Subfraksi	50
Lampiran 11. <i>Certificate of Analysis</i> DPPH	55
Lampiran 12. <i>Certificate of Analysis</i> Kuersetin	56
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian	57



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman kecap (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan polifenol. Daun, batang, dan akar *Sandoricum koetjape* mengandung saponin, flavonoid dan polifenol (Depkes RI 1994). Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Warsinah *et al.* 2011) didapatkan bahwa daun kecap mengandung senyawa terpenoid dan asam koetjapat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Oktaviani (2018) daun kecap mengandung senyawa flavonoid, tannin, fenol, saponin dan fraksi dari daun kecap memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Radikal bebas adalah molekul, atom atau kelompok atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan diluar orbit, bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas dapat bereaksi dengan makromolekul seperti protein, karbohidrat, lemak dan bahkan asam nukleat dapat menyebabkan kerusakan oksidatif ketidakmampuan dalam menghancurkan radikal bebas yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif. Salah satu penyebab utama dari penyakit adalah radikal bebas. Reaksi ini dapat menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak sel, bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak serta penyakit degeneratif lainnya. Radikal bebas dapat dinetralkan oleh suatu senyawa yaitu antioksidan (Hasim *et al.* 2018).

Antioksidan adalah zat yang memperlambat atau menghambat stres oksidatif pada molekul target. Antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan berbagai ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko berbagai penyakit kronis seperti kanker dan jantung koroner. Berdasarkan sumbernya antioksidan dikelompokkan menjadi 2 yaitu antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis (Priyanto 2015). Karakter utama antioksidan adalah kemampuannya menangkap radikal bebas (Prakash *et al.* 2001). Tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat memiliki zat-zat penting yang sangat berperan dalam menentukan aktivitas kerja tumbuhan obat tersebut, salah satunya yaitu flavonoid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan (Selawa *et al.* 2013). Pada penelitian yang dilakukan oleh Oktaviani (2018) fraksi

etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terkuat dengan nilai IC_{50} terendah yaitu 41,66 $\mu\text{g/ml}$. Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH. Keunggulan metode DPPH adalah sederhana, cepat, mudah, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel (Hanani 2015). Dengan adanya hasil antara ekstrak dengan fraksi, maka penelitian bermaksud untuk menguji aktivitas antioksidan daun kecap pada tingkat subfraksi.

B. Permasalahan Penelitian

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dipaparkan, penulis dapat menemukan suatu permasalahan yaitu apakah subfraksi etil asetat daun kecap (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan subfraksi etil asetat daun kecap (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) yang diukur dengan parameter nilai IC_{50} serta kapasitas dari masing-masing subfraksi.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat mengenai aktivitas antioksidan subfraksi etil asetat daun kecap (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) dan nilai IC_{50} dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengumpulan Bahan

Pengumpulan bahan adalah tahap awal untuk penelitian ini, bahan yang digunakan adalah daun kecap (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) yang diperoleh dari BALITTRO sebanyak 5 kg daun segar.

B. Determinasi Tanaman

Tujuan dilakukannya determinasi pada tanaman daun kecap sendiri adalah untuk mendapatkan identitas dari tanaman yang akan diuji khasiatnya. Hasil determinasi “Herbarium Bogoriense” Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Bogor menunjukkan bahwa tanaman daun kecap yang diteliti benar termasuk kedalam suku *meliaceae*. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

C. Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun kecap segar dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya daun kecap diangin-anginkan sehingga diperoleh daun kecap kering. Pengerinan dilakukan untuk meminimalkan kadar air yang terkandung dalam simplisia sehingga diharapkan terhindar dari tumbuhnya mikroba dan menyebabkan rusaknya kandungan senyawa aktif pada simplisia. Kemudian daun kecap yang telah kering diremas kemudian diayak dengan ayakan mesh nomor 20. Serbuk yang diperoleh sebanyak 1,25 kg.

D. Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode sederhana yaitu metode maserasi atau dengan cara perendaman menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol termasuk ke dalam pelarut yang bersifat polar, selektif terhadap kapang dan khamir, mikroorganisme sulit tumbuh, tidak beracun dan netral. Pelarut etanol 70% yang digunakan bertujuan untuk memudahkan dalam proses penarikan senyawa dikarenakan simplisia yang digunakan adalah simplisia kering, sehingga kandungan air sebanyak 30% diharapkan dapat melakukan pembasahan pada serbuk simplisia. Pembasahan ini bertujuan untuk memudahkan cairan penyari memasuki pori-pori dalam simplisia sehingga pertukaran cairan di dalam sel berlangsung lebih mudah dan cepat.

Metode maserasi merupakan metode yang paling banyak digunakan karena metode ini paling sederhana dan alatnya mudah didapat dan cocok untuk senyawa yang tidak tahan panas. Proses maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dengan etanol 70% dan diamkan simplisia selama 24 jam yang mana tiap 6 jam sesekali diaduk. Kemudian maserat disaring dengan kain flannel dan ampasnya direndam kembali dengan etanol 70% dengan perlakuan yang sama seperti cara diatas. Remaserasi dilakukan sebanyak 3 kali, kemudian maserat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun kecap yang diperoleh sebanyak 276 gram dengan persen rendemen sebesar 22,08%. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman daun kecap memiliki senyawa sebanyak 22,08%. Besar kecilnya rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi. Hasil ekstraksi daun kecap dapat dilihat pada Tabel 3. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Daun Kecap

Bahan	Hasil
Serbuk kering daun kecap	1,25 kg
Maserat cair	37,5 liter
Ekstrak kental daun kecap	276 gram
Rendemen	22,08%

E. Fraksinasi

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya (Harborne 1987). Pelarut yang digunakan berbeda kepolarannya yaitu n-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar. Pada proses pengocokan corong pisah sesekali keran dibuka untuk mengeluarkan tekanan uap yang berlebih, setelah itu, fraksinasi didiamkan akan membentuk 2 lapisan fase yang polar akan berada di bawah sedangkan fase yang non polar berada di atas. Hal ini berkaitan dengan berat jenis pelarut polar > pelarut semi polar > pelarut non polar. Berat jenis pelarut yang digunakan pada proses fraksinasi ini yaitu: n-heksan 0,655 g/cm³, etil asetat 0,894 g/ cm³, dan air 0,997g/ cm³. Hasil fraksinasi etil asetat yang diperoleh sebanyak 26,58 gram dengan rendemen 16,9191%, fraksi air yang diperoleh 23,12 gram dengan rendemen 14,7167% dan fraksi n-heksan sebanyak 214,1 mg dengan rendemen

0,1362%. Besar kecilnya hasil rendemen menunjukkan keefektifan proses fraksinasi. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 8 dan hasil fraksi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Fraksinasi

Jenis	Hasil		
	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Bobot	0,2141 g	26,58 g	23,12 g
Rendemen	0,1362%	14,7167%	16,9191%

F. Karakteristik Serbuk, Ekstrak, dan Fraksi

Pemeriksaan karakteristik serbuk, ekstrak dan fraksi bertujuan untuk mendapatkan hasil yang memenuhi standar mutu. pemeriksaan karakteristik ekstrak meliputi pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan kadar abu dan susut pengeringan. Pada pemeriksaan karakteristik fraksi meliputi pemeriksaan organoleptis. Hasil pemeriksaan organoleptis terhadap serbuk dan ekstrak dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil pemeriksaan fraksi dapat dilihat pada Tabel 6. Tujuan organoleptis adalah mendeskripsikan serbuk, ekstrak dan fraksi secara objektif menggunakan panca indra.

Tabel 5. Karakteristik Serbuk dan Ekstrak

Karakteristik	Hasil	
	Serbuk	Ekstrak Kental
Bentuk	Serbuk	Ekstrak kental
Bau	Khas	Khas
Rasa	Pahit	Pahit
Warna	Cokelat tua	Cokelat kehitaman
Susut pengeringan	-	3,68%
Kadar Abu	-	4,74%

Hasil pengujian kadar abu ekstrak kental daun kecap adalah 4,74%. Hasil ini menunjukkan bahwa pengujian kadar abu memenuhi syarat dimana nilai kadar abu tidak lebih dari 12% (Depkes RI 1989). Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberi gambaran kandungan mineral internal dan eksternal dalam simplisia, mulai dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes RI 2000). Sedangkan hasil dari susut pengeringan ekstrak kental daun kecap adalah 3,68%. Hasil ini menunjukkan bahwa pengujian susut pengeringan memenuhi syarat dimana nilai

susut pengeringan tidak lebih dari 10% (Depkes RI 2000). Maka pada penelitian tidak melakukan penetapan kadar air karena pada susut pengeringan menunjukkan hasil kurang dari 10% maka kadar air yang terkandung kurang dari 10%. Susut pengeringan bertujuan untuk menggambarkan batasan maksimal senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

Tabel 6. Karakteristik Fraksi

Karakteristik	Hasil		
	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Bentuk	Fraksi kental	Fraksi kental	Fraksi kental
Bau	Khas	Khas	Khas
Rasa	Pahit	Pahit	Pahit
Warna	Cokelat kekuningan	Cokelat kehitaman	Cokelat kehitaman

G. Uji Kandungan Kimia Ekstrak dan Fraksi

Uji kandungan kimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit yang terkandung pada ekstrak dan fraksi etil asetat. Pemeriksaan uji kandungan ekstrak dilakukan dengan pereaksi-pereaksi yang hasilnya dinyatakan dengan warna. Sedangkan pada fraksi dilakukan uji kandungan kimia menggunakan kromatografi lapis tipis. Dapat dilihat pada Tabel 7 dan Lampiran 6.

Tabel 7. Hasil Uji Kandungan Kimia Ekstrak dan Fraksi

Golongan Senyawa	Ekstrak Kental Daun Kecapi	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Alkaloid	+	+	+	+
Flavonoid	+	-	+	-
Saponin	+	-	+	-
Tanin	+	-	+	-
Fenol	+	-	-	+
Steroid	+	-	-	-
Terpenoid	-	+	+	-

Keterangan : (+) = Positif, (-) = Negatif

Hasil uji kandungan kimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% pada daun kecapi positif mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder. fraksi etil asetat positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Pada uji Alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff yang membentuk kompleks kalium-alkaloida berupa endapan kuning, jingga, merah, hingga coklat muda

karena adanya reaksi antara nitrogen pada alkaloida dengan ion logam kalium dari kalium tetraiodobismutat dalam pereaksi Dragendorff (Marliana *et al.* 2005). Pereaksi Mayer yang membentuk kompleks kalium-alkaloida berupa endapan putih karena adanya reaksi antara nitrogen pada alkaloida dengan ion logam kalium dari kalium tetraiodomercurat II dalam pereaksi Mayer (Roanisca 2018). Pereaksi Bouchardat mengandung kalium triiodida yang menghasilkan endapan coklat hingga kehitaman jika membentuk ikatan dengan nitrogen dari alkaloida (Marliana *et al.* 2005).

Pada uji Flavonoid menggunakan pereaksi Shinoda dengan logam Mg dan HCl pekat akan mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid sehingga terbentuk warna merah atau jingga (Setyowati *et al.* 2014). Pada uji Saponin membentuk larutan koloida dalam air dan membentuk busa jika dikocok dan tidak hilang jika adanya penambahan asam (Harborne 1987). Hal ini dikarenakan saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob, dimana gugus hidrofilik menghadap ke luar sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara menghadap ke dalam membentuk sistem misel keadaan ini membentuk busa. Pada penambahan HCl 2N bertujuan untuk menambahkan gugus hidrofilik sehingga busa menjadi stabil (Simaremare 2014). Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Selawa *et al.* 2013). Hasil diatas menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi etil asetat daun kecapi berpotensi sebagai antioksidan.

H. Subfraksi

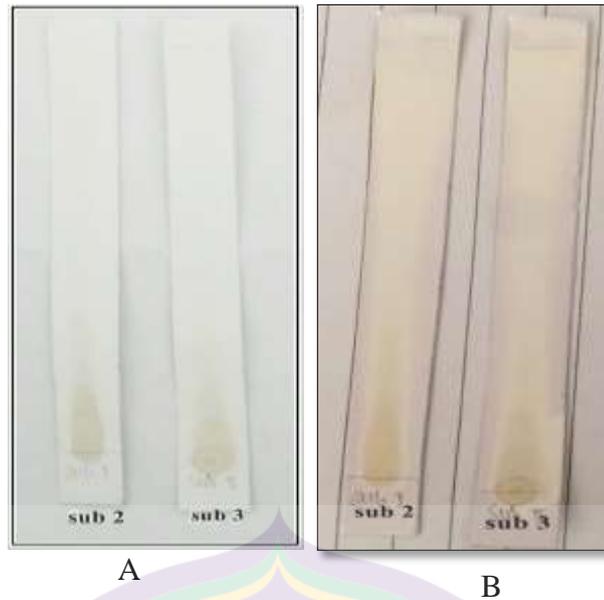
Dilakukannya subfraksi dengan tujuan menghasilkan senyawa yang lebih murni dari senyawa-senyawa pengotor melalui kromatografi kolom. Hasil kromatografi kolom ditampung dalam vial 10 ml dengan cara membuka keran bagian bawah pada kolom, sehingga diperoleh sebanyak 750 vial serta mendapatkan pita warna yang berbeda-beda. Kemudian hasil subfraksi ditentukan nilai R_f nya dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam berupa silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya menggunakan etil (9:1) metanol. Hasil KLT kemudian dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Plat yang sudah diamati di sinar UV kemudian dihitung nilai R_f nya. Penggabungan subfraksi menghasilkan 4 subfraksi gabungan, penggabungan ini dikelompokkan berdasarkan nilai R_f yang

sama atau mendekati (Mulyani *et al.* 2013). Pada subfraksi 1 dengan vial nomor 1-361 tidak berwarna (bening) dan pada saat dilakukan kromatografi lapis tipis secara sampling, tidak menimbulkan bercak pada plat KLT. Hal ini menunjukkan subfraksi 1 tidak terdapat senyawa didalamnya atau dapat dikatakan hanya terdapat fase gerak saja. Pada vial nomor 362-632 memiliki nilai R_f yang sama yaitu 0,43 maka hasil subfraksi pada nomor vial tersebut dikelompokkan menjadi subfraksi 2. Sedangkan, pada vial nomor 374-700 memiliki nilai R_f yang sama yaitu 1 maka hasil subfraksi pada nomor vial tersebut dikelompokkan menjadi subfraksi 3. Pada nomor vial 701-750 atau subfraksi 4 tidak menghasilkan warna (bening) dan tidak menimbulkan bercak saat dilakukan kromatografi lapis tipis secara sampling. Hal ini sama seperti subfraksi 1 yang menunjukkan tidak adanya senyawa didalamnya. Berikut ini adalah tabel hasil subfraksi daun kecap. Hitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 8. Hasil Subfraksi

No.	Bahan	Hasil
1.	Fraksi kental yang digunakan	0,8015 gram
2.	Berat subfraksi 2	0,0980 gram
	Berat subfraksi 3	0,1376 gram
3.	Rendemen subfraksi 2	12,2270%
	Rendemen subfraksi 3	13,7600%

Kemudian subfraksi 2 dan subfraksi 3 yang didapat, diuji kembali dengan kromatografi lapis tipis menggunakan pereaksi semprot DPPH. Tujuannya untuk memperkirakan subfraksi mana yang akan menunjukkan aktivitas antioksidan. Apabila DPPH direaksikan dengan peredam radikal bebas misalnya flavonoid intensitas warna ungu akan berkurang dan bila senyawa peredam radikal bebas yang bereaksi jumlahnya besar, maka DPPH dapat berubah warna menjadi kuning (Katrin & Bendra 2015). Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis pada subfraksi 2 dan subfraksi 3 menunjukan hasil positif berwarna kuning dengan latar belakang ungu. Hal ini menunjukkan bahwa subfraksi 2 dan subfraksi 3 mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil penyemprotan subfraksi 2 dan 3 dengan DPPH.



Keterangan: (A) sebelum Disemprot DPPH dan (B) sesudah disemprot DPPH
Gambar 3. Hasil Kualitatif Subfraksi Aktivitas Antioksidan dengan DPPH 0,1 mM

I. Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang dari absorbansi maksimum untuk pengukuran dengan metode DPPH yaitu 515-520 nm (Molyneux 2004). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH pada panjang gelombang 400-800 nm adalah 516 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,612. Perbandingan yang digunakan pada penelitian ini adalah kuersetin. Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan adalah konsentrasi inhibitor atau *Inhibitor Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal bebasnya atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan presentase penghambatan radikal bebas sampai 50% (Anggorowati *et al.* 2016). Prinsip dari metode DPPH adalah senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal DPPH. DPPH yang semula radikal akan menjadi non radikal yang ditandai dengan berkurangnya intensitas warna dari ungu menjadi kuning stabil dan penurunan nilai absorbansi larutan DPPH setelah ditambahkan antioksidan (Molyneux 2004). Kekuatan suatu sampel dalam meredam radikal DPPH ditunjukkan dengan menurunnya intensitas warna

ungu dari larutan DPPH sehingga nilai absorbansinya juga menurun. Hasil pengujian aktivitas antioksidan subfraksi etil asetat dengan metode DPPH dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH

Bahan uji	Konsentrasi (ppm)	Abs I	Abs II	Abs III	Rata – rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
Kuersetin	2	0,479	0,478	0,477	0,478	28,6567	7,2558
	4	0,421	0,420	0,419	0,420	37,3134	
	6	0,364	0,362	0,361	0,3623	45,9253	
	8	0,318	0,317	0,317	0,3173	52,6417	
	10	0,266	0,264	0,262	0,264	60,5970	
Subfraksi 2	20	0,451	0,450	0,452	0,451	26,3071	67,8459
	40	0,384	0,383	0,382	0,383	37,4183	
	60	0,315	0,316	0,315	0,3153	48,4803	
	80	0,268	0,267	0,266	0,267	56,3725	
	100	0,226	0,225	0,224	0,225	63,2352	
Subfraksi 3	20	0,442	0,443	0,441	0,442	27,7777	70,5126
	40	0,406	0,405	0,404	0,405	33,8235	
	60	0,316	0,315	0,315	0,3153	48,4803	
	80	0,267	0,268	0,266	0,267	56,3725	
	100	0,243	0,242	0,241	0,242	60,4575	

Parameter suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 µg/ml, sedang jika IC₅₀ bernilai 100-250 µg/ml dan lemah jika IC₅₀ bernilai 250-500 µg/ml (Blois 1958). Dari nilai % inhibisi dapat ditentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing subfraksi. Nilai IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi subfraksi (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Zuhra *et al.* 2008). Hasil penelitian terdahulu fraksi etil asetat daun kecap memiliki nilai IC₅₀ sebanyak 41,66 µg/ml menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Pada hasil penelitian yang diperoleh subfraksi 2 mendapatkan nilai IC₅₀ sebanyak 67,8459 µg/ml dan hasil subfraksi 3 mendapatkan nilai IC₅₀ sebanyak 70,5126 µg/ml hal ini menunjukkan bahwa ke-2 subfraksi tersebut memiliki aktivitas antioksidan kuat. Hal ini disebabkan karena adanya beberapa senyawa aktif yang terdapat dalam fraksi dapat bersinergis dalam menghambat radikal bebas, sehingga nilai IC₅₀ fraksi lebih baik dari subfraksi.

BAB V

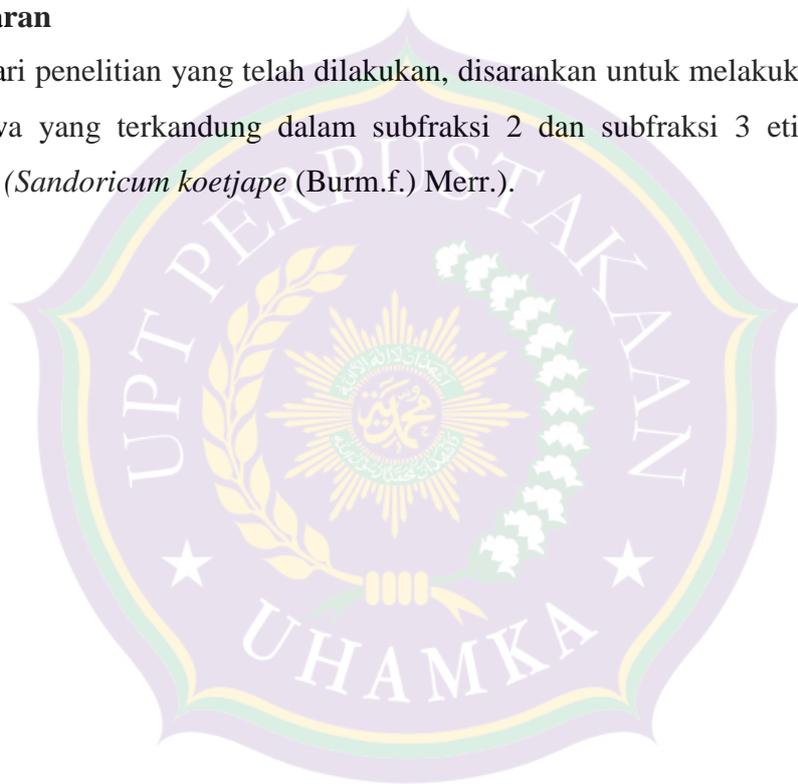
SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari data hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diambil simpulan bahwa subfraksi 2 dan subfraksi 3 etil asetat daun kecap memiliki aktivitas antioksidan kuat dalam menangkap radikal bebas. Dari hasil penelitian tersebut didapat subfraksi 2 mendapatkan nilai IC_{50} sebanyak 67,8459 $\mu\text{g/ml}$ dan hasil subfraksi 3 mendapatkan nilai IC_{50} sebanyak 70,5126 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai IC_{50} kuersetin sebagai pembanding 7,2558 $\mu\text{g/ml}$.

B. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan pemisahan senyawa yang terkandung dalam subfraksi 2 dan subfraksi 3 etil asetat daun kecap (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.).



DAFTAR PUSTAKA

- Anggorowati, A., Priandini, G., & Thufail. (2016). Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Miller.) sebagai Minuman Teh Herbal yang Kaya Antioksidan. 6(1), 1–7.
- Bayani, F. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Buah Sentul (*Sandoricum koetjape* Merr.). *Prisma Sains : Jurnal Pengkajian Ilmu Pembelajaran Matematika Dan IPA IKIP Mataram*, 4(2), 47–54.
- Bendra (2012). Uji Aktivitas Antiksidan Ekstrak Daun *Premna oblongata* Miq. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok. 16-17.
- Blois M.S. (1958). Antioxidant Determinations By The Use of A Stable Free Radical. *Nature*. 181(4617), 1991–1996.
- Departemen Kesehatan RI. (1979). *Materia Medika* (Jilid V). Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 549-553.
- Departemen Kesehatan RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Direktort Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 1, 15, 20, 26-27
- Departemen Kesehatan RI. (1989). *Material Medika Indonesia* (Edisi V). Direktort Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 52, 53, 55-56
- Departemen Kesehatan RI. (1994). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* (Edisi III). Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 245-246.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia* (Edisi IV). Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 7, 1005-1007.
- Departemen Keseharan RI. (2000). *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Maanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 12-14, 18,22.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia* (Edisi I). Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 32-37, 165,169.
- Hanani E. (2015). *Analisis fitokimia*. EGC. Jakarta. 103-107, 111, 123.
- Harborne JB. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terjemahan: Kokasih P.dan I. Soediro. ITB. Bandung. 37, 47, 49, 51-53.

- Hasim, Andrianto, D., Islamiati, W., Farhiah, A., Hamid, W., & Faridah, D. N. (2018). Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Red Yeast Rice and its Fractionation Products. *Research Journal of Phytochemistry*, 12(3), 52–59.
- Hastuti, N.O. (2018). Uji Antioksidan Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Kecapi (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr. Dengan Metode DPPH Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA. Jakarta. 25-26.
- Katrin, & Bendra, A. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 21–31.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, 28(2), 211–219.
- Mulyani M, Arifin B, Nurdin H. (2013). Uji Antioksidan dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Srikaya (*Annona squamosa* L). *Jurnal Kimia Unand*. 2(1): 6-12.
- Prakash A. Rigelhof F. and Miller E. (2001). Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. 19 (2). 1-4.
- Priyanto. (2015). *Toksikologi. Mekanisme, Terapi antidotum, dan Penilaian risiko*. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi Indonesia (*lenskofi*). Jakarta. 87.
- Puryono, R. I., Puspitasari, E., & Ningsih, I. Y. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Varietas Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) (Antioxidant Assay of Some *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss Varieties using DPPH (1,1 - Diphenyl - 2 - Pic. *Pharmacy*. 6(08), 1-6
- Roanisca, O. (2018). Skrining Fitokimia dan Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Pucuk Iding-Iding (*Stenochlaena Palustris*) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus Aureus*, dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman Kimia FMIPA Unmul* 15(2012):99–105.
- Safrina, D., Brotojoyo, E., & Kamila, I. (2019). Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh dan Metode Pengeringan Terhadap Organoleptik dan Kadar Asiatikosid Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb). *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 8(3), 208–213.

- Selawa, W., Runtuwene, M., & Citraningtyas, G. (2013). Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.). *Ilmiah Farmasi*, 2(01), 18–23.
- Setiawan, N., & Febriyanti, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr dengan Metode DPPH (*The Antioxidant Activity Of Extract And Factions Eleutherine palmifolia* (L.) Merr Bulbs By DPPH Method). 1(1), 1–5.
- Setyowati, W. A. E., Ariani S. R. D., Ashadi, Mulyani. B., & Rahmawati, C. P. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia*. 271-280.
- Simaremare ES. (2014). Skrining Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* Roxb.). *Pharmacy*. 11(1). 98-107.
- Siswarni, M., Putri, Y., & Rinda, R. (2017). Ekstraksi Kuersetin dari Kulit Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Metode Maserasi dan Sokletasi. *Teknik Kimia USU*, 6(1), 36–42.
- Swantara, D., & Ciawi, Y. (2009). Identifikasi Senyawa Antibakteri Pada Daun Kecapi (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.)). *Kimia*, 3(2), 61–68.
- Warsinah, Kusumawati, E., & Sunarto. (2011). (*Sandoricum koetjape*) dan Aktivitasnya Terhadap Candida Identification Of Compound Antifungi Of *Sandoricum koetjape*. Stem And Activity To Candida albicans. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 170–178.
- Wati, M., Erwin, & Tarigan, D. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium myrtifilium* Walp.). *Mila Wati Kimia FMIPA Unmul*, 14(2), 100–107.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H. (2008). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatra*, 3(1), 10–13.