

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK N-HEKSANE DAUN
PALEMBHANG (*LANNEA COROMANDELICA*) di PULAU GILI IYANG
DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI



Oleh:

**NOR HAYATI
NIM. IST2003011**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANNUQAYAH
GULUK-GULUK SUMENEP
2024**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK N-HEKSANE DAUN
PALEMBHANG (*LANNEA COROMANDELICA*) di PULAU GILI IYANG
DENGAN METODE DPPH (*2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL*)**

SKRIPSI

Oleh:

**NOR HAYATI
NIM. IST2003011**

diajukan Kepada:

Ketua Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Annuqayah
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar
Sarjana Sains (S. Si)

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANNUQAYAH
GULUK-GULUK SUMENEP
2024**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK N-HEKSANE DAUN
PALEMBHANG (*LANNEA COROMANDELICA*) di PULAU GILI IYANG
DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:

**NOR HAYATI
NIM. IST2003011**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji pada tanggal: 13 Agustus 2024


Ketua Program Studi Kimia

Ach. Khoirul S. Si., M. Sc
NIDN. 0703108802

Pembimbing


Nurul Inayah, M. Si
NIDN. 2129059001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Mahrus Afi, M. Si
NIDN. 12291818.001

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK N-HEKSANE DAUN
PALEMBHANG (*LANNEA COROMANDELICA*) di PULAU GILI IYANG
DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:

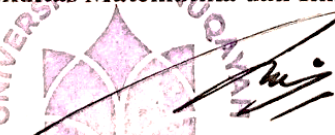
**NOR HAYATI
NIM. IST2003011**

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si)

Pada Tanggal: 13 Agustus 2024

Penguji I	: Ach. Kholish, S. Si., M. Sc. NIDN. 0703108802	()
Penguji II	: Robiatul Andawiyah, M. Si. NIDN. 0715049501	()
Pembimbing	: Nurul Inayah, M. Si. NIDN. 2129059001	()

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam


Mahrus Ali, M. Si
NIY. 122.9.18.18.001

PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur dan hormat, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa

Atas segala berkah, rahmat, dan maunah-Nya yang selalu menyertai dalam setiap langkah hidup saya.

2. Orang Tua Tercinta

Ayah dan Ibu, terima kasih atas doa, cinta, dukungan, dan pengorbanan yang tak ternilai. Kalian adalah inspirasi terbesar bagi saya.

3. Dosen Pembimbing dan Pengajar

Bapak/Ibu dosen yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan nasihat selama masa studi. Terima kasih atas arahan dan bimbingannya dalam menyelesaikan skripsi ini.

4. Keluarga

Saudara-saudaraku, yang selalu memberikan semangat dan motivasi. Terima kasih atas cinta dan dukungannya.

5. Sahabat dan Teman-teman

Teman-teman seperjuangan yang telah berbagi cerita dan kebersamaan selama masa perkuliahan. Terima kasih atas kerjasama dan persahabatannya.

6. Almamater Tercinta

Universitas Annuqayah, yang telah memberikan saya kesempatan untuk belajar dan berkembang. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat dan menjadi sumbangsih kecil bagi almamater tercinta.

Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung proses penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat menjadi langkah awal menuju masa depan yang lebih baik.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nor Hayati
NIM : IST2003011
Program Studi : Kimia
Fakultas : Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksane
Daun Palembang (*Lannea Coromandelica*) Di
Pulau Gili Iyang Dengan Metode Dpph (2,2-
Difenil-1-Pikrilhidrazil)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Sumenep, 13 Agustus 2024

Yang membuat pernyataan



Nor Hayati

NIM. IST2003011

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK N-HEKSANE DAUN
PALEMBHANG (*LANNEA COROMANDELICA*) di PULAU GILI IYANG
DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

Nor Hayati

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Annuqayah

ABSTRAK

Daun Palembang (*Lannea Coromandelica*) merupakan tanaman yang tumbuh di daerah beriklim tropis seperti Indonesia, daun tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai tanaman obat. Pada penelitian ini daun Palembang (*Lannea Coromandelica*) digunakan sebagai sampel untuk menguji aktivitas antioksidannya. Sebelum melakukan uji aktivitas antioksidan, terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan fitokimia sebagai langkah analisis kualitatif untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder daun Palembang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan daun Palembang (*Lannea Coromandelica*) menggunakan parameter nilai IC_{50} . Metode yang digunakan adalah dengan mengukur besarnya DPPH tereduksi/terikat senyawa antioksidan secara spektrofotometri UV-visibel pada panjang gelombang 512,5 nm dengan menggunakan acuan vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan Daun Palembang yang dikeringkan diangin-anginkan selama kurang lebih 8 hari dan diekstraksi dengan cara maserasi (perendaman) dengan pelarut n-heksana, menunjukkan bahwa ekstrak daun Palembang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid dan steroid. Ekstrak n-heksana daun Palembang (*Lannea Coromandelica*) mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 33.81 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan nilai IC_{50} pada vitamin C sebesar 30,62 $\mu\text{g/ml}$, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun Palembang sangat kuat sesuai dengan vitamin C yang di jadikan acuan.

Kata Kunci: Antioksidan, daun Palembang dan metabolit sekunder

TEST ANTIOXIDANT ACTIVITY ON PALEMBHANG (*LANNEA COROMANDELICA*) LEAVES ON GILI IYANG ISLAND USING THE DPPH (2,2-DIPHENIL-1-PIKRILHIDRAZIL) METHOD

Nor Hayati

Chemistry Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
Annuqayah University

ABSTRACT

Palembhang leaves (*Lannea Coromandelica*) are a plant that grows in tropical climates such as Indonesia. The leaves of this plant contain secondary metabolite compounds which can be used as a medicinal plant. In this study, palm leaves (*Lannea Coromandelica*) were used as samples to test their antioxidant activity. Before carrying out the antioxidant activity test, a phytochemical examination was first carried out as a qualitative analysis step to determine the secondary metabolite content of palembhang leaves. The aim of this research was to determine the antioxidant activity of n-hexane extract from palembhang leaves (*Lannea Coromandelica*) using the IC_{50} value parameter. The method used is to measure the amount of DPPH reduced/bound by antioxidant compounds using UV-visible spectrophotometry at a wavelength of 512.5 nm using vitamin C as a reference. The results of the research show that dried palm leaves were air-dried for approximately 8 days and extracted by means of Maceration (soaking) with n-hexane solvent, shows that Palembhang leaf extract contains secondary metabolite compounds such as alkaloids, terpenoids and steroids. And n-hexane extract from Palembhang (*Lannea Coromandelica*) leaves has antioxidant activity with an IC_{50} value of 33.81 $\mu\text{g/ml}$. Meanwhile, the IC_{50} value for vitamin C is 30.62 $\mu\text{g/ml}$, which shows that the antioxidant activity of palembhang leaves is stronger than vitamin C which is used as a reference.

Keywords: Antioxidant, palm leaves and secondary metabolites

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmanirrohiim,

Segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan Rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul " Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksane Daun Palembang (*Lannea Coromandelica*) Di Pulau Gili Iyang Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)". Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman. Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Bapak Dr. KH. Mohammad Husnan, M.Pd. selaku Rektor Universitas Annuqayah.
2. Bapak Mahrus Ali, M. Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Annuqayah.
3. Bapak Ach. Kholish, M. Sc selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Annuqayah.
4. Ibu Nurul Inayah M. Si selaku dosen pembimbing yang telah sudi membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Ayah dan Ibu serta keluarga tercinta yang telah memberikan Doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
6. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2020 dan teman-teman seperjuangan yang telah memberikan semangat untuk terus belajar dan belajar.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Sumenep, 13 Agustus 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	ivii
ABSTRACT	iviii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiiiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tanaman Palembang.....	7
2.3 Ekstraksi	9
2.4 Antioksidan.....	11
2.5 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	12
2.6 Metabolit Sekunder.....	13
2.7 Spektrofotometer UV-Vis.....	18
BAB III. METODE PENELITIAN	20
3.1 Rancangan Penelitian	20
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.3 Alat dan Bahan	20

3.3.1. Alat.....	20
3.3.2. Bahan.....	21
3.4 Prosedur Penelitian	21
3.4.1. Preparasi Sampel.....	21
3.4.2. Ekstraksi Maserasi	21
3.4.3. Penentuan Golongan Senyawa	22
3.4.3.1 Uji Alkaloid.....	22
3.4.3.2 Uji Flavonoid.....	22
3.4.3.3 Uji Fenolik.....	23
3.4.3.4 Uji Terpenoid/ Steroid.....	23
3.4.3.5 Uji Tanin	23
3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan.....	23
3.4.4.1 Uji Penyiapan Larutan 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH) ..	24
3.4.4.2 Uji Penyiapan Larutan Induk Ekstrak n-Heksane	24
3.4.4.3 Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat.....	24
3.4.4.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan 1,1-Difenil-2- Pikrihidrazil (DPPH)	24
3.4.4.5 Pengukuran Absorbansi Larutan Pembanding Asam Askorbat... ..	25
3.4.4.6 Pengukuran Absorbansi Larutan Ekstrak n-Heksane Daun Palembang (<i>Lannea coromandelica</i>).....	25
3.5 Analisis Data	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Preparasi Sampel	28
4.2 Ekstraksi Maserasi.....	29

4.3 Uji Skrining Fitokimia.....	30
4.4 Uji Aktivitas Antioksidan.....	35
BAB V. PENUTUP.....	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman <i>Lannea coromandelica</i>	7
Gambar 2. 2 Struktur DPPH	13
Gambar 2. 3 Struktur flavonoid	15
Gambar 2. 4 Struktur alkaloid.....	15
Gambar 2. 5 Struktur saponin	16
Gambar 2. 6 Struktur tanin.....	16
Gambar 2. 7 Struktur fenol	17
Gambar 2. 8 Struktur steroid.....	18
Gambar 4. 1 Serbuk daun palembhang	29
Gambar 4. 2 Hasil ekstrak dan filtrat daun palembhang.....	30
Gambar 4. 3 Skrining fitokimia	31
Gambar 4. 4 Reaksi alkaloid dan dragendorf.....	33
Gambar 4. 5 Reaksi dugaan terpenoid	34
Gambar 4. 6 Panjang gelombang serapan ekstrak daun palembhang	37

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Klasifikasi Aktivitas Antioksidan	27
Tabel 4. 1 Persen Randemen Ekstrak Daun Plalembhang	30
Tabel 4. 2 Hasil Uji Skrining Fitokimia.....	31
Tabel 4. 3 IC ₅₀ Ekstrak Daun Palembang	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ekstraksi Sampel Daun Palembang.....	35
Lampiran 2. Penentuan Golongan Senyawa	35
Lampiran 2. Uji Aktivitas Antioksidan.....	37
Lampiran 4. Perhitungan.....	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang kaya akan sumber daya alam diantaranya adalah beberapa tanaman yang berpotensi sebagai obat. Adapun pemanfaatan tumbuhan menjadi obat tradisional membutuhkan penelitian ilmiah untuk dapat diketahui manfaatnya (Rahmadani, 2015). Tumbuhan yang berpotensi sebagai obat mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dll. Senyawa tersebut merupakan senyawa kimia bioaktif yang melindungi tanaman dari hama dan penyakit lingkungan (Paramudita et all., 2017). Salah satu tumbuhan yang diyakini mempunyai potensi sebagai obat adalah tumbuhan Palembang (*Lannea coromandelica*) yang banyak ditemukan di wilayah Sulawesi, Makassar, dan Madura. Salah satu tempat di Pulau Madura yang banyak ditemukan tanaman Palembang adalah Gili Iyang (Alam, et all., 2017).

Gili Iyang adalah pulau kecil yang terletak di bagian timur Pulau Madura. Pulau kecil ini menarik karena masyarakat percaya bahwa kawasan dengan kandungan oksigen (O₂) yang tinggi, tertinggi bahkan setelah Laut Mati (Kramer dan Godfrey, 1996; Falk et all., 2006). Berdasarkan referensi Kementerian Pekerjaan Umum dan Perumahan Rakyat menyatakan kandungan oksigen di Gili Iyang paling rendah 20-23% dan tertinggi 27% (Ciptakarya, 2014). Gili Iyang tidak banyak mempunyai aktivitas yang menghasilkan polutan udara seperti CO, NO, NO₂, SO₂, O₃ dan berbagai partikel. Kandungan oksigen yang tinggi menandakan udara bersih dan tidak tercemar. Kadar oksigen yang tinggi dapat dijadikan alternatif yang baik untuk mendukung aktivitas antioksidan daun

Palembhang. Oleh karena itu, daun Palembang yang diteliti diambil dari Pulau Gili Iyang.

Tanaman Palembang (*Lannea coromandelica*) telah banyak digunakan sebagai tanaman obat tradisional di beberapa negara (Imam dan Moniruzzaman, 2014). Tanaman ini dapat tumbuh hampir di seluruh wilayah Indonesia khususnya di Sulawesi Selatan karena tanaman ini dapat beradaptasi pada tanah gembur, subur dan kaya air (Handaya, 2013). Tanaman Palembang merupakan pohon yang tingginya bisa sampai 20 meter dan berkembang luas di beberapa negara tropis termasuk Indonesia. Tanaman ini mempunyai berbagai manfaat diantaranya ialah untuk menyembuhkan luka bagian dalam dan luar seperti diare dan muntah-muntah (Rahayu et all., 2006). Diketahui tumbuhan ini mempunyai banyak nama yang berbeda-beda tergantung tempatnya, misalnya di Madura disebut tumbuhan Palembang, di Bugis disebut pohon Kayu Jawa, di Jawa disebut pohon Kudo, Jaranan, Ki Kuda, Kedondong Laki, di Flores disebut pohon Reo, di Sulawesi Selatan Aju Tammate yang artinya tidak akan mati karena tanaman Palembang mudah tumbuh walaupun hanya ditancapkan di dalam tanah (Husain, 2019).

Beberapa penelitian mengenai uji antioksidan tanaman Palembang, diantaranya air rebusan daun Palembang (*Lannea coromandelica*) menunjukkan adanya senyawa saponin, flavonoid, polifenol dan tanin. Ekstrak etanol yang dikombinasikan dengan air alkohol daun Palembang mempunyai kemampuan sebagai pelindung hati dan memiliki kandungan metabolit sekunder diantaranya alkaloid, terpenoid dan fenolik serta aktivitas antioksidan (Rao et all., 2014). Kulit

batang palembhang dilaporkan mengandung flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, dan termasuk golongan karbohidrat dengan nilai indeks aktivitas antioksidan (AAI) sebesar 5,579 (Manik et al., 2013). ; Prawirodiharjo., 2014). phytoconstituents seperti glikosida, saponin, flavonoid, tanin dan steroid telah diidentifikasi dalam ekstrak kloroform tanaman Palembang (Joseph et al. 2013). Kelimpahan senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi dari ekstrak Klika Palembang (*Lannea coromandelica*) meliputi flavonoid, saponin, tanin dan steroid.

Berdasarkan beberapa penelitian dapat disimpulkan bahwa bagian tanaman palembhang yang sering diuji aktivitas antioksidannya adalah kulit batang, ranting dan klika palembhang, meskipun tidak hanya bagian tersebut saja, namun bagian lainnya juga mempunyai aktivitas antioksidan, seperti daun palembhang. Sampai saat ini, hanya sedikit laporan penelitian yang menjelaskan uji aktivitas antioksidan daun palembhang.

Maserasi merupakan suatu metode pengujian antioksidan dengan cara perendaman. sampel yang digiling menjadi partikel-partikel kecil direndam dalam suatu pelarut dengan cara diaduk berulang kali pada suhu kamar. Berdasarkan perbedaan pelarut, senyawa polar, non polar dan semi polar mempunyai kemungkinan untuk meneliti aktivitas antioksidan ekstrak daun Palembang dengan efektivitas masing-masing pelarut. Pelarut yang dipakai pada pengujian ini yaitu (n-heksana).

Berdasarkan penelitian Muhammad Deky Satria, et al., (2013) tentang Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-heksane Buah (*Cayratia Trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) dan Andi Surya Rahayu AM, et al., (2019) tentang Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-heksane Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica Houtt Merr.*) serta penelitian Irene Cornelia Constanty 2021 mengenai Aktivitas Antioksidan dari Fraksi n-heksane Kulit Batang Tumbuhan Jambu Semarang (*Syzygium samarangense*). Beberapa peneliti tersebut mendukung terhadap pelarut non-polar (N-Heksana) yang berpotensi menguatkan terhadap pengujian antioksidan.

Antioksidan merupakan zat yang pada konsentrasi rendah mempunyai kemampuan untuk menunda reaksi oksidasi protein, karbohidrat, lipid dan DNA (Sindhi et al., 2013). Dengan kata lain antioksidan atau pemulung radikal bebas merupakan senyawa yang dapat menghalau radikal bebas dengan cara mendonasikan elektronnya kepada senyawa induknya (Julfetriyani et al., 2016). Radikal bebas merupakan senyawa yang sangat reaktif karena elektron pada kulit terluarnya tidak berpasangan. Radikal bebas bereaksi cepat dengan membran dan dapat menyebabkan degenerasi sel dan akhirnya kematian (Warner et al., 2004). Molekul radikal dari antioksidan kurang reaktif dibandingkan radikal bebas yang dinetralkan. Sebelum bereaksi dengan molekul lain, senyawa antioksidan terlebih dahulu bereaksi dengan molekul radikal bebas sehingga dapat menghambat atau mencegah kerusakan oksidatif molekul target (Sadeli, 2016).

Pengukuran antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa jenis metode, antara lain dengan menerapkan metode penangkal radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Cara ini dinilai sederhana, cepat dan relatif mudah namun terbukti akurat meski nyaman. Uji DPPH berperan sebagai radikal bebas yang mengandung senyawa nitrogen non padat yang berwarna ungu tua. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH akan berkurang dan warnanya menjadi kuning. Perubahan warna kemudian diukur menggunakan spektrofotometer dan penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh menurunnya ikatan rangkap pada DPPH. Kondisi ini terjadi jika elektron diblokir oleh antioksidan sehingga tidak mampu beresonansi.

Berdasarkan uraian di atas, yang melatar belakangi dilakukannya penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Pada Daun Palembang (*Lannea coromandelica*) di Pulau Gili Iyang Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)” untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung dalam tumbuhan daun Palembang.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak daun Palembang (*Lannea coromandelica*) dalam pelarut n-heksana?
2. Apa saja senyawa metabolit sekunder fraksi n-Heksane yang terkandung dalam daun Palembang?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak n-heksane daun Palembang (*Lannea coromandelica*) yang berasal dari Gili Iyang, pulau Madura Indonesia.
2. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun Palembang.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan supaya bisa memberikan informasi serta memberikan kontribusi ilmiah bahkan menjadi acuan tentang kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun Palembang (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) sebagai aktivitas antioksidan, menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Masyarakat atau industri sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengobatan dengan aman.

1.5 Batasan Masalah

Pembatasan yang diperlukan dalam permasalahan ini adalah:

1. Sampel yang dipakai adalah daun Palembang.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode perendaman/maserasi.
3. Pelarut yang digunakan untuk mendapatkan maserat adalah n-Heksane.
4. Pembacaan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Palembang (*Lannea Coromandelica* (Houtt) Merr)



Gambar 2.1 Tanaman Palembang

Pada taksonomi tumbuhan, Tanaman Palembang dikelompokkan sebagai berikut (Isnn India Biodiversitas, 2006).

Kingdom : Plantae
Phylum : Magnoliophyta
Class : Spermatophyta
Ordo : Sapindales
Family : Anacardiaceae
Genus : *Lannea*
Species : *Lannea Coromandelica* (Houtt) Merr.

Nama ilmiah tumbuhan Palembang adalah *Lannea Coromandelica* Houtt Merr. Merupakan salah satu tanaman tertinggi dalam famili Anacardiaceae yang terdiri dari 82 genus dan kurang lebih 800 spesies (Wahid, 2008).

Tanaman Palembang merupakan pohon gugur yang dapat tumbuh setinggi 20 meter (biasanya 10-15 m). Abu-abu dan coklat tua adalah warna pada permukaan batang. Kulitnya agak kasar, ada pengelupasan serpihan-serpihan kecil tidak beraturan, serat dalam bagian batang berwarna merah tua dan mengeluarkan cairan seperti karet. Daunnya menyempit dan berukuran 7-11. Bunga satu sisi berwarna kuning kehijauan. Kelopak berbentuk lonjong, dengan panjang sekitar 12 mm, sedikit merah dan keras. Pada bulan Januari hingga Mei tanaman Palembang biasa berbunga dan berbuah.

Penelitian yang dilakukan oleh Rahmadani (2015) mengemukakan tentang tumbuhan Palembang secara tradisional bisa digunakan menjadi obat untuk menyembuhkan penyakit, sariawan serta gatal-gatal. Sedangkan Penelitian yang dilakukan oleh Alam (2012) melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit batang Palembang mempunyai aktivitas biologis semisal antioksidan dan antibakteri pada *Candida albicans*. Penelitian yang dilakukan Prawirodihardjo (2014) melaporkan bahwa kulit dari kayu tanaman Palembang mempunyai aktivitas antioksidan sangat kuat dengan Indeks Aktivitas Antioksidan (AAI) sebesar 5,5679. Gauniyal dan Teotia (2015) memberitahukan bahwa ekstrak etanol ranting Palembang memiliki zona hambat pada pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis* dan *Candida albicans*. Selain itu, kulit batang *Lannea coromandelica* juga memiliki aktivitas anti inflamasi, anti

diare, antioksidan dan trombolitik (Astuty et al., 2020). Hasil skrining fitokimia air rebusan daun Palembang (*Lannea coromandelica*) menunjukkan adanya kandungan senyawa saponin, flavonoid, polifenol dan tanin. Ekstrak etanol dengan air beralkohol daun Palembang menunjukkan potensi hepatoprotektif dan aktivitas antioksidan yang menunjukkan adanya senyawa fenolik, terpenoid dan alkaloid (Alam A et al., 2013).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu pemisahan bahan aktif dari cairan atau padatan yang menggunakan pelarut. Ekstraksi padat-cair (leaching) merupakan proses pemisahan zat-zat terlarut (solut) dari campuran zat-zat padat yang tidak mudah larut (inert) dengan pelarut cair. Proses yang terjadi didalam padat-cair biasanya disebut difusi. Prinsip proses ekstraksi adalah: pelarut berpindah dari bulk ke permukaan. Pelarut melakukan penetrasi pada permukaan inert ke dalam pori-pori padatan (difusi antarpartikel). Suatu zat yang ikut larut dalam padatan (solut) larut dalam pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi. Campuran zat terlarut dalam pelarut berdifusi menjauhi permukaan padatan inert. Kemudian, zat terlarut (solut) meninggalkan pori-pori padatan inert dan bercampur dengan pelarut diluar padatan tersebut. Tergantung pada langkah yang digunakan, ekstraksi padat-cair dibagi menjadi perendaman, perkolasi dan soxhletasi (Leba, 2017).

Maserasi adalah suatu teknik perendaman dimana zat yang digiling menjadi partikel-partikel kecil direndam berulang kali dalam suatu pelarut

dengan cara diaduk atau dikocok pada suhu kamar. pengadukan pada saat perendaman berperan penting dalam meningkatkan gaya kontak pelarut dengan dinding sel tanaman sampel sehingga zat aktif (senyawa metabolit) terlepas dari sel (Sasidharan et al., 2018; Famida et al., 2023). Proses perendaman ini biasanya dilakukan berturut-turut hingga 3 hari. Campuran larutan kemudian disaring setiap 1x24 jam. Padatan lalu ditekan dan cairan gabungan dijernihkan dengan proses penyaringan. Ekstraksi dapat dilakukan beberapa kali agar analit yang didapat terekstraksi secara sempurna. Hal ini dapat ditunjukkan dengan tidak berwarna pelarut yang digunakan. Keuntungan metode maserasi adalah alat dan metode yang digunakan sederhana dan dapat diterapkan pada analit, baik analit stabil secara termal maupun tidak. Cara perendaman juga dapat menghindari resiko kerusakan senyawa yang tidak tahan panas pada tanaman (Tetti, 2014).

Berdasarkan teori sejenis-zat terlarut, ekstraksi adalah proses melarutkan zat terlarut ke dalam bidang polaritas yang sama. Sama seperti senyawa polar yang larut dalam pelarut polar, senyawa nonpolar juga larut dalam pelarut nonpolar. Dalam proses ekstraksi harus dipenuhi dua syarat pelarut, yaitu pelarut yang digunakan harus merupakan pelarut terbaik. Untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstraksi senyawa non polar, pelarut yang digunakan harus memiliki polaritas yang sama. Senyawa nonpolar pada sampel dapat diekstraksi dengan pelarut nonpolar, salah satunya adalah n-heksana. Pelarut N-heksana adalah pelarut yang baik untuk

ekstraksi senyawa non polar karena mempunyai beberapa keunggulan antara lain pelarut ini relatif stabil, mudah menguap dan selektif dalam melarutkan zat (Sri Wahdaningsih, et.al., 2013).

2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan zat yang struktur molekulnya dapat dengan leluasa mendonorkan elektron atom hydrogen kepada molekul radikal bebas tanpa menghambat aktivitasnya serta mengganggu reaksi berantai radikal bebas. Senyawa yang dapat mencegah reaksi oksidasi dengan substrat yang bisa dinetralkan oleh radikal bebas disebut antioksidan (Fajriah et al., 2007). Peran antioksidan dalam tubuh adalah sebagai garis pertahanan pertama tubuh melawan radikal bebas. Mulai dari rokok, polusi, stres dan lain-lain, radikal bebas terus meningkat di dalam tubuh yang bisa memberikan bermacam kerusakan pada tubuh. Terdapat contoh antioksidan yaitu vitamin C (mudah larut dalam air), dan vitamin E (mudah larut dalam lemak).

Reaktivitas senyawa radikal bebas disebabkan oleh rusaknya sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif bahkan kanker, sehingga tubuh membutuhkan zat yang sangat penting yaitu antioksidan agar tubuh bisa melindungi diri dari serangan radikal bebas yang mampu mengurangi dampak negatif pengaruh senyawa radikal bebas tersebut (Karyadi, 1997).

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode yang sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah penggunaan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH).

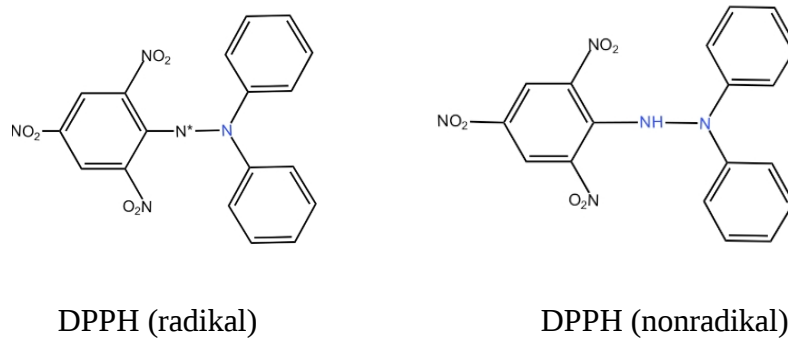
Radikal DPPH merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna ungu tua. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH termasuk kedalam metode yang sederhana, cepat, memerlukan sedikit sampel untuk mengukur antioksidan dan tidak memerlukan banyak reagen (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang bereaksi dengan senyawa antioksidan. DPPH (ungu) direduksi menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang memiliki sifat sebagai non radikal (kuning) dan menghasilkan radikal antioksidan. Perubahan warna ungu menjadi kuning dapat dideteksi dan diukur serapannya dengan spektrofotometer (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Suatu bahan bisa dibilang aktif sebagai antioksidan apabila persentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50% (Parwata, et.all., 2019). Secara kuantitatif pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dinyatakan dalam nilai IC_{50} (Inhibition Concentration). Handayani et al., (2008), besar kecilnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu sampel. Parameter lain yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah menggunakan nilai AAI (Antioxidant Activity Index).

Tingkat keefektifan antioksidan berdasarkan uji DPPH pada nilai IC_{50} dan AAI.

Struktur molekul senyawa radikal bebas DPPH sebelum dan sesudah berikatan membentuk DPPH nonradikal dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2.2 Struktur kimia senyawa DPPH radikal dan nonradikal

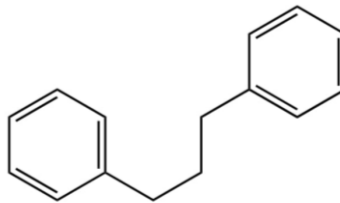
2.5 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah proses pembentukan metabolit dari molekul sederhana menjadi molekul kompleks yang terdapat pada makhluk hidup. Metabolit terdiri dari dua jenis yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh organisme hidup selama biosintesis, yang digunakan untuk menunjang aktivitas kehidupan, namun tidak esensial (Saifudin, 2014). Senyawa metabolit sekunder dapat melindungi diri di lingkungan tempat tinggalnya. Tumbuhan tertentu, termasuk tanaman obat, dapat menghasilkan metabolit sekunder (Dewoto, 2007). Pada saat yang sama, senyawa metabolit primer ditemukan pada semua spesies. Di dalam organisme, senyawa ini berperan

sebagai pertahanan terhadap predator dan pesaing serta mendukung proses reproduksi (Herbert, 1996).

Senyawa metabolit sekunder terdiri dari beberapa golongan antara lain: alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenol, saponin, steroid, tanin, kumarin dan karotenoid (Hanani, 2010). Peran metabolit sekunder adalah untuk melindungi terhadap kondisi lingkungan yang merugikan, seperti kemampuan mengatasi hama dan penyakit, menarik penyerbuk, dan bertindak sebagai molekul pemberi sinyal. Sementara itu, metabolit sekunder tanaman yang diperuntukkan bagi manusia dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit.

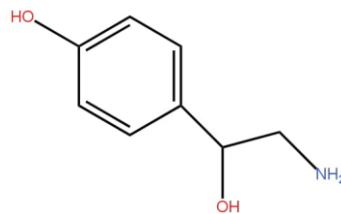
Flavonoid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder terluas dan terbesar dimana jumlahnya lebih dari 6500 kelas. Struktur flavonoid dapat ditunjukkan pada Gambar 2.2. pengelompokan flavonoid bisa dilihat ciri strukturalnya. Flavanon, flavon, isoflavone, flavonol, antosianin dan kalkon merupakan kelompok utama flavonoid (Corradini et.al., 2011). Terdapat berbagai senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri (Arifin & Ibrahim, 2018).



Gambar 2.3 Struktur Flavonoid (Corradini et.al., 2011).

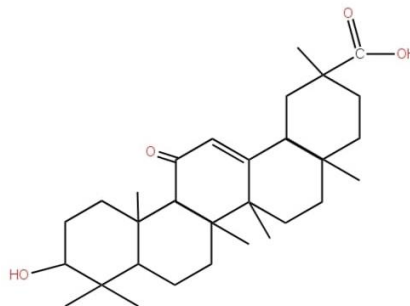
Turunan senyawa alkaloid diantaranya pirolidin, piridin, fenetilamina, isokuinolin, dan terpen, dimana senyawa alkaloid paling sedikit mempunyai

satu atom nitrogen dan bisa ditunjukkan pada Gambar 2.3 (Cadar et.al., 2015). Senyawa turunan alkaloid yang mempunyai aktivitas antioksidan adalah kuinolon dan melatonin, sedangkan senyawa alkaloid khususnya indol mempunyai aktivitas menghentikan reaksi radikal bebas (Juniarti, 2011). Pada proses pengujian alkaloid, pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan berwarna jingga berbeda dengan pereaksi meyer menghasilkan warna endapan (putih) (Nugrahani et.al., 2016).



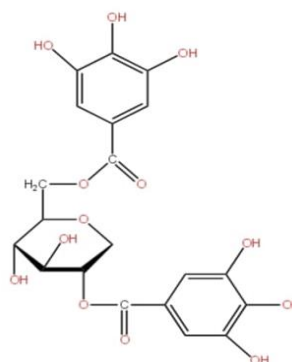
Gambar 2.4 Struktur alkaloid (Nugrahani et al., 2016).

Saponin adalah senyawa glikoisda triterpene dan steroid yang terbentuk di jalur mevalonat. Pada gambar 2.4 struktur senyawa saponin dapat dilihat dimana saponin menyebar luas pada tumbuhan dibagian buah, daun, akar dan batang. Senyawa ini biasa digunakan sebagai antijamur, antibakteri, dan penghambat sel tumor (Purnaningsih, 2017). Senyawa saponin mempunyai gugus -OH rata-rata (Bintoro et.all., 2017). Apabila senyawa saonin dikocok dalam air akan mengeluarkan busa. Saponin tidak mudah larut dalam eter namun bisa larut dalam alkohol dan air (Illing et.all., 2017).



Gambar 2.5 Struktur Saponin (Illing et.al., 2017).

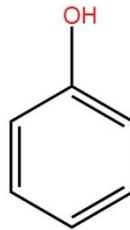
Tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi merupakan bagian dari senyawa polifenol kompleks. Struktur senyawa pada tanin dapat ditunjukkan pada Gambar 2.5. senyawa tanin yang ada pada tumbuhan dapat memberikan aktivitas sebagai antibakteri, antitumor dan antioksidan (Okuda & Io, 2011).



Gambar 2.6 Struktur Tanin (Okuda & Ito, 2011).

Senyawa fenolik mempunyai satu gugus hidroksil dimana senyawa ini penting dalam buah, sayur dan tanaman lainnya. Senyawa fenolik memiliki empat kelompok utama yaitu kuinon, polimer dan fenol yang mengandung cincin aromatik. Struktur senyawa fenolik dapat ditunjukkan pada Gambar 2.6 (Kabera et.al., 2014). Apabila suatu tanaman memiliki kandungan

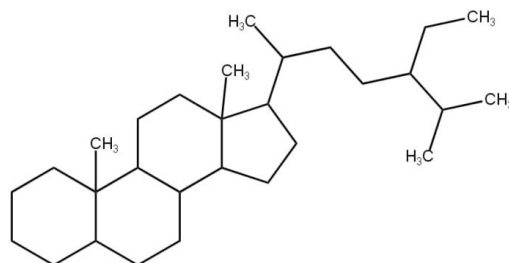
fenolik yang tinggi, aktivitas antioksidannya juga akan semakin kuat (Badriyah, 2017).



Gambar 2.7 Struktur Fenol (Kabera et.al., 2014).

Senyawa terpenoid mempunyai fungsi protektif pada cekaman abiotic dan biotik serta sebagai antibakteri, antineoplastik dan lainnya. Ciri utama yang ada ada pada senyawa terpenoid adalah mudah larut dalam pelarut organic, termasuk golongan senyawa tak jenuh, bersifat siklik, mudah teroksidasi, polimerisasi serta mengalami dehidrogenasi (Yadav et.al., 2014).

Steroid terbuat dari bahan alami biasa disebut sterol dan berperan menjadi pertahanan pada serangan mikroba dan serangga (Ningsih & Zuhasfair, 2016). Bentuk dasar struktur steroid berupa cincin siklopentana. Biasanya steroid bertindak sebagai hormon (Illing et.al., 2017). Struktur senyawa steroid dapat ditunjukkan ada Gambar 2.7.



Gambar 2.8 Strktur Steroid (Illing et.al., 2017).

2.6 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk menganalisis suatu senyawa secara kuantitatif atau kualitatif dengan mengukur transmitansi atau serapan suatu sampel sebagai fungsi konsentrasi. Penentuan kualitatif didasarkan pada puncak-puncak yang muncul atau teramati pada panjang gelombang tertentu pada spektrum unsur, sedangkan penentuan kuantitatif didasarkan pada nilai serapan yang dibentuk oleh spektrum senyawa kompleks unsur yang dianalisis dengan komplekser yang sesuai. Keuntungan dari spektrofotometer yang disediakan oleh fotometer adalah panjang gelombang cahaya putih dapat dideteksi dengan lebih baik, dan metode ini diperoleh dengan menggunakan alat hamburan seperti prisma, kisi atau celah optik. Dalam fotometer, filter warna berbeda mempunyai spesifikasi pada panjang gelombang tertentu (Gandjar, 2007).

Spektrofotometer UV-Vis adalah metode analisis untuk menentukan konsentrasi senyawa penyerap radiasi pada daerah terang. Dalam menentukan rentang Panjang gelombang elektromagnetik yang biasa digunakan memiliki tiga rentang diantaranya, rentang UV (200-400 nm), rentang cahaya tampak (400-750 nm), dan rentang inframerah (700-3000 nm). Spektrofotometer UV-Vis dipandu oleh interaksi radiasi elektromagnetik berupa sinar UV yang disebabkan oleh peristiwa penyerapan suatu molekul dengan frekuensi yang sesuai (Ergina et.al., 2014).

Prinsip kerja spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak, sumber cahayanya memancarkan satu warna. Dalam cahaya monokromatik, cahaya dari sumber dipecah menjadi panjang gelombang tertentu untuk mengukur zat tertentu. Dari sana, cahaya atau energi pancaran ditransmisikan dan diserap ke dalam larutan yang diperiksa di dalam kuvet. Cahaya yang diserap memberikan sinyal elektrik pada detektor, Dimana sinyal ini berbanding lurus dengan cahaya yang diserap dalam larutan. Besar kecilnya sinyal elektri yang mengalir ke pencatat bisa dilihat sebagai angka (Setiono & Dewi, 2013).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengujian eksperimental di laboratorium. Daun Palembang (*Lannea coromandelica*) yang diambil dari Pulau Gili Iyang Kabupaten Sumenep digunakan sebagai sampel. Pengukuran aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret hingga bulan Mei 2024. Penelitian dilakukan di laboratorium kimia IST Annuqayah dan Universitas Trunojoyo Madura (UTM) Bangkalan.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu kertas label, blender, ayakan (50 mesh), gunting, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, spatula, pipet tetes, botol vial, alat forteks, aluminium, gelas ukur, gelas beaker, labu ukur, erlenmeyer, pengaduk kaca, toples maserasi, kertas saring, corong, timbangan analitik, rotary evaporator, plat tetes, pompa vacum, mortar batu agata, kuvet, spektrofotometer UV-Vis.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu daun palembhang, n- Heksane, HCl pekat, etil asetat, aquades, eter, asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat, pereaksi FeCl_3 1%, serbuk Mg, pereaksi dragendorf, kertas saring, tisu, etanol, serbuk asam askorbat murni, wrapping, kapas, KBr, aluminium foil, serbuk DPPH.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Langkah pertama adalah persiapan sampel. Daun palembhang dibersihkan, dipotong kecil-kecil dan dikering anginkan. Tujuan dari pengeringan adalah untuk menghilangkan kandungan air pada daun Palembhang, mencegah jamur tumbuh, agar daun palembhang bisa awet dalam jangka waktu yang lama dan senyawa kimia pada daun Palembhang tidak rusak. Setelah itu digiling dengan blender, kemudian diayak dengan ayakan 50 mesh sehingga diperoleh 150gram serbuk daun palembhang halus (Nur Azizah, 2011).

3.4.2 Ekstraksi Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah perendaman pada suhu ruangan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi. Timbang 150 gram serbuk daun Palembhang (*Lannea coromandelica*), rendam dalam 400 ml n-heksan dengan toples rendaman selama 3 x 24 jam dengan tujuan untuk memecahkan

membran sel dan dinding sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma bisa terdegradasi (Baraja, 2008). Setiap 1x24 jam perendaman dihentikan dan disaring untuk memisahkan ampas dan diperoleh maserat n-heksana daun Palembang. Maserat yang dihasilkan kemudian diuapkan pada suhu 50⁰C menggunakan rotary evaporator dan diatur dibawah suhu pelarut supaya tidak merusak bahan aktif dalam sampel (Fatmawati, 2015). Tujuan dari penguapan adalah untuk memekatkan konsentrasi larutan ekstraksi yang kental. Ekstrak pekat yang dihasilkan kemudian digunakan untuk uji fitokimia.

3.4.3 Penentuan Golongan Senyawa

3.4.3.1 Uji Alkaloid

Untuk mendeteksi senyawa alkaloid, kurang lebih 20 mg ekstrak pekat dimasukkan ke dalam plat tetes kemudian ditambahkan 3- 5 tetes pereaksi Dragendroff yang mengandung alkaloid bila terbentuk endapan berwarna jingga atau coklat.

3.4.3.2 Uji Flavonoid

Untuk mengidentifikasi flavonoid, diambil 20 mg ekstrak, ditambahkan mg bubuk dan beberapa tetes HCl pekat lalu diaduk. Uji positif ditandai dengan munculnya warna merah, jingga atau ungu (Robinson, 1995).

3.4.3.3 Uji Fenolik

Untuk mengidentifikasi senyawa fenolik, 20 mg ekstrak pekat ditempatkan dalam plat tetes dan kemudian ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1% yang positif mengandung fenol apabila menunjukkan perubahan warna hijau, merah, biru, ungu atau hitam pekat (Harborne, 2004).

3.4.3.4 Uji Terpenoid/ Steroid

Untuk mendeteksi terpenoid/steroid, diambil 20 mg ekstrak sampel dan dimasukkan ke dalam plat tetes, kemudian ditambahkan beberapa tetes etil asetat dan diaduk. 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Positif terpenoid apabila berubah warna antara kuning dan merah. Jika mengalami perubahan warna hijau positif steroid (Mutmainnah, 2017).

3.4.3.5 Uji Tanin

Untuk mendeteksi tanin, ambil 20 mg ekstrak, masukkan ke dalam plat tetes, tambahkan 3-4 tetes FeCl_3 ke dalam filtratnya, jika berwarna hijau atau biru kehitaman maka positif adanya tanin (Mutmainnah, 2017).

3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Proses pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH dengan meliputi penyiapan sampel dan larutan vitamin C, larutan DPPH, optimasi Panjang gelombang DPPH, terakhir penentuan nilai IC_{50} pada sampel.

3.4.7.1 Penyiapan Larutan 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH)

Timbang 1,9716 mg serbuk DPPH dan masukkan ke dalam labu takar 50 ml, kemudian tambahkan etanol sampai tanda tera, tutup dengan alumunium foil dan simpan di tempat terlindung dari Cahaya dan suhu rendah.

3.4.7.2 Penyiapan Larutan Induk Ekstrak n-Heksane

Ekstrak n-heksana ditimbang 5 mg dan dimasukkan ke dalam labu takar 50 ml, diencerkan dengan pelarut etanol hingga tanda batas. Larutan induk yang diperoleh dengan konsentrasi 100 ppm kemudian diencerkan kembali pada konsentrasi 12,5, 25, 37,5 dan 50 ppm.

3.4.7.3 Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat

Ditimbang 5 mg bubuk asam askorbat murni kemudian larutkan menggunakan etanol pada labu 100 ml sampai tanda tera. Larutan yang dihasilkan merupakan larutan acuan ekstrak n-heksana dengan konsentrasi 50 ppm, diencerkan kembali dengan konsentrasi berbeda yaitu 12,5 ppm, 25 ppm, 37,5 ppm, dan 50 ppm dalam labu 100 ml.

3.4.7.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan 1,1-Difenil-2-Pikridrazil (DPPH)

Pipet larutan DPPH 2 ml ke dalam labu kemudian ukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (nilai serapan tertinggi pada panjang gelombang 400-800 nm dicatat sebagai panjang gelombang

maksimum).

3.4.7.5 Pengukuran Absorbansi Larutan Pembanding Asam Askorbat

Pipet 2 ml setiap konsentrasi yaitu 12,5, 25, 37,5 dan 50 ppm pada tabung reaksi, kemudian tambahkan 2 ml DPPH (100 ppm) dan homogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar sekitar 30 menit, kemudian dipipet ke dalam kuvet, kemudian diinstrumentasi pada serapan panjang gelombang tertinggi untuk mengukur serapannya.

3.4.7.6 Pengukuran Absorbansi Larutan Ekstrak N-Heksane Daun Palembang (*Lannea coromandelica*)

Pipet 2 ml masing-masing konsentrasi yaitu 12,5, 25, 37,5 dan 50 ppm pada tabung reaksi, tambahkan 2 ml DPPH 100 ppm dan homogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, lalu dipipet ke dalam kuvet, kemudian diinstrumentasi untuk mengukur serapan pada panjang gelombang tertinggi.

3.5 Analisis Data

Berdasarkan data serapan yang diperoleh maka kapasitas anti radikal bebas dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$inhibisi (\%) = \frac{(\text{Abs DPPH} - \text{Abs Sampel})}{\text{Absorbansi DPPH}} (100\%)$$

Persentase yang diperoleh pada setiap konsentrasi dihitung menggunakan regresi linier dengan persamaan $y = ax + b$, dimana y (persentase penghambatan) dan x (konsentrasi). Data antioksidan radikal

DPPH (persentase penghambatan) ekstrak n-heksana daun Palembhang (*Lannea coromandelica*) dianalisis dan dihitung menggunakan IC_{50} , dari nilai x setelah mengganti y dengan 50. Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin kuat aktivitas antioksidannya. Persamaan regresi linier dapat digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} yang menunjukkan konsentrasi sampel dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%.

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = Persentase aktivitas antioksidan

x = Konsentrasi larutan uji

a = Tetapan slope

b = Tetapan intersep

Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi, dimana absis (sumbu x) adalah konsentrasi ekstrak dan koordinat (sumbu y) adalah persentase peredaman (aktivitas antioksidan). Hasil analisis regresi linier berupa nilai x dimasukkan ke dalam rumus $IC_{50} = \text{antilog } x$ dan ditentukan kekuatan antioksidannya. (Hidajat, 2005).

Table 3.1 Klasifikasi aktivitas antioksidan

No	Nilai IC₅₀	Antioksidan
1.	< 50 ppm	Sangat kuat
2.	50-100 ppm	Kuat
3.	100-150 ppm	Sedang
4.	150-200 ppm	Lemah

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel adalah metode yang digunakan untuk meminimalisir pengotor yang menghambat proses analisis dengan menghilangkan komponen selain analit. Dalam proses preparasi sampel daun Palembang (*Lannea coromandelica*) di cuci dengan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang menempel pada daun Palembang. Setelah itu, sampel dikering anginkan untuk mengurangi kadar air sehingga lebih tahan lama dalam penyimpanan, mencegah tumbuhnya mikroba serta mengurangi kerusakan terhadap kandungan kimianya agar tidak mengganggu proses ekstraksi (Harrizul Rivai et.al., 2015).

Langkah terakhir adalah penghalusan sampel daun Palembang, tujuannya adalah untuk memperluas permukaan agar kontak antara sampel dengan pelarut pada saat ekstraksi menghasilkan jumlah ekstrak yang maksimal. Serbuk daun Palembang yang diperoleh kemudian diayak menggunakan mesh ukuran 50. Tujuan dari ukuran ayakan ini adalah untuk mendapatkan serbuk yang berukuran sedang, karena bila ukuran serbuk terlalu kecil dikhawatirkan akan larut pada saat proses penyaringan sampel. Dan jika ukuran serbuk terlalu besar, dikhawatirkan tidak larut sempurna dengan pelarut yang digunakan

dalam proses maserasi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).



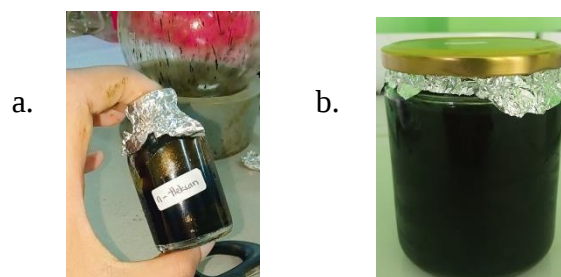
Gambar 4.1 Serbuk Daun Palembang hasil ayakan 50 mesh

4.2 Ekstraksi Maserasi

Daun palembhang (*Lannea coromandelica*) dimaserasi menggunakan pelarut non polar (n-heksane) pada suhu ruang selama 1x24 jam. Karena dengan metode ini bisa mencegah terhadap proses degradasi metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap pemanasan (Tetti, 2014). Pelarut ini digunakan untuk menarik senyawa non polar yang terkandung dalam senyawa metabolit sekunder (Sri Wahdaningsih et.al., 2013).

Ekstrak n-heksane daun Palembang setelah didiamkan selama 1x24 jam, disaring dengan kertas saring. Tujuan dari proses filtrasi agar filtrat dan ampas terpisah. Ampas yang diperoleh direndam kembali dengan 400 ml pelarut n-heksana, dikocok selama 30 menit dan didiamkan selama 24 jam. Begitu seterusnya hingga filtrat ketiga dibuat dengan proses berulang yang sama selama 3x24 jam. Ekstraksi dapat dilakukan beberapa kali agar analit yang didapat terekstraksi secara

sempurna dan maksimal (Kurniati melia, 2022).



Gambar 4.2 (a) hasil ekstrak daun Palembang (b) hasil filtrat selama 3x24 jam.

Filtrat yang terbentuk selama perendaman diuapkan dengan evaporator vakum pada suhu 50°C, karena diatas suhu 50°C dikhawatirkan senyawa metabolit sekunder yang ada pada sampel rusak (Wulandari Tri Ratna, 2021). Proses penguapan dilakukan untuk memperoleh ekstrak kental (Harrizul Rivai et.all., 2015). Ekstrak sampel ini sebanyak 3,72 gram. Warna ekstrak daun Palembang yang diperoleh pada proses rotasi berwarna hijau hitam dengan nilai rendemennya seperti pada Tabel 4.1.

Table 4.1 Hasil persen rendemen ekstrak daun Palembang

Jenis sampel	Berat sampel (g)	Berat ekstrak	Rendemen (%)
Daun Palembang	150	3,72	2,48 %

4.3 Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji kualitatif yang dilakukan untuk memperoleh senyawa aktif dari daun Palembang (Lannea coromandelica). Golongan zat aktif atau metabolit sekunder yang diuji

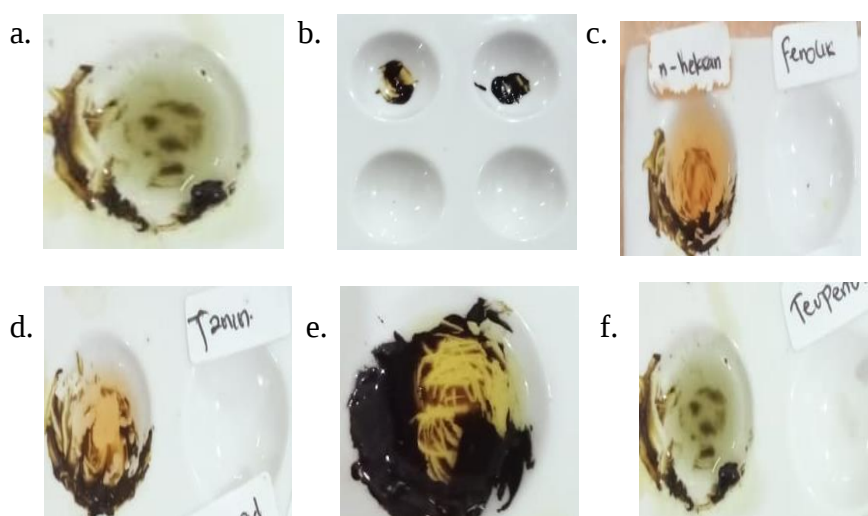
adalah fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan steroid. Hasil dari uji skrining fitokimia ini ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Table 4.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia

No	Parameter	Pereaksi	Warna	Ekstrak n-Heksane
1	Flavonoid	Mg dan HCl pekat	Hijau	-
2	Fenolik	FeCl ₃ 1%	Jingga	-
3	Steroid	Etil asetat, asam asetat anhidrat dn asam sulfat pekat	Hijau	+
4	Terpenoid	Etil asetat, asam asetat anhidrat dn asam sulfat pekat	Kuning	+
5	Alkaloid	Pereaksi Dragendrof	Jingga	+
6	Tanin	FeCl ₃ 1%	Jingga	-

Keterangan: + = positif metabolit sekunder
- = negatif metabolit sekunder

Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak daun Palembang (*Lannea coromandelica*) pada sampel hanya mengandung senyawa alkaloid, terpenoid dan steroid, positif terhadap perubahan warna dan endapan (Rao, et.all., 2014). Hasil gambar skrining fitokimia ditunjukkan pada gambar di bawah ini.



g.

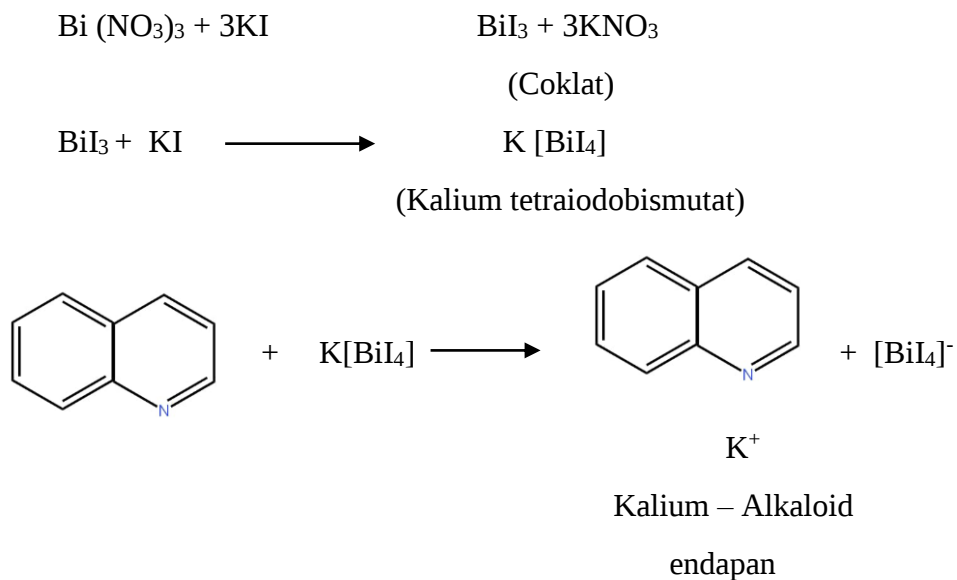


Gambar 4.3 Hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder ekstrak n-heksane daun palembhang

Skrining fitokimia daun Palembang (*Lannea coromandelica*) dilakukan untuk mengetahui keberadaan metabolit sekunder melalui analisis fitokimia menggunakan pereaksi sebagai pendeteksi suatu senyawa (Endarini, 2016). Hasil skrining fitokimia ekstrak n-heksan daun Palembang (*Lannea coromandelica*) menunjukkan adanya kandungan alkaloid, terpenoid dan steroid. Penelitian terdahulu mengemukakan bahwa ekstrak etanol yang dikombinasikan dengan air alkohol daun palembhang menunjukkan adanya senyawa fenolik, alkaloid dan terpenoid (Rao, et.al., 2014). Hal ini disebabkan karena pelarut n-heksana bersifat non-polar, sehingga kemungkinan besar dapat menarik komponen senyawa yang bersifat non-polar. Terpenoid dan steroid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat nonpolar sehingga mudah diekstraksi dengan n-heksana. Alkaloid merupakan senyawa semi polar, dan dapat diekstraksi dengan pelarut non polar, walaupun hasilnya rendah (Dewi, et.al., 2013).

Senyawa alkaloid ditemukan dalam ekstrak daun Palembang. Hal ini disebabkan senyawa alkaloid biasanya bersifat semi polar dan

hanya pelarut non polar yang mengikatnya (Dewi et al., 2013). Uji alkaloid diperoleh dengan menggunakan pereaksi Dragendorf. Ekstrak daun palembhang positif dengan perubahan warna jingga yang tidak terlalu menonjol pada sampel. Reaksi alkaloid dengan reagen dragendrof ditunjukkan pada Gambar 4.4.

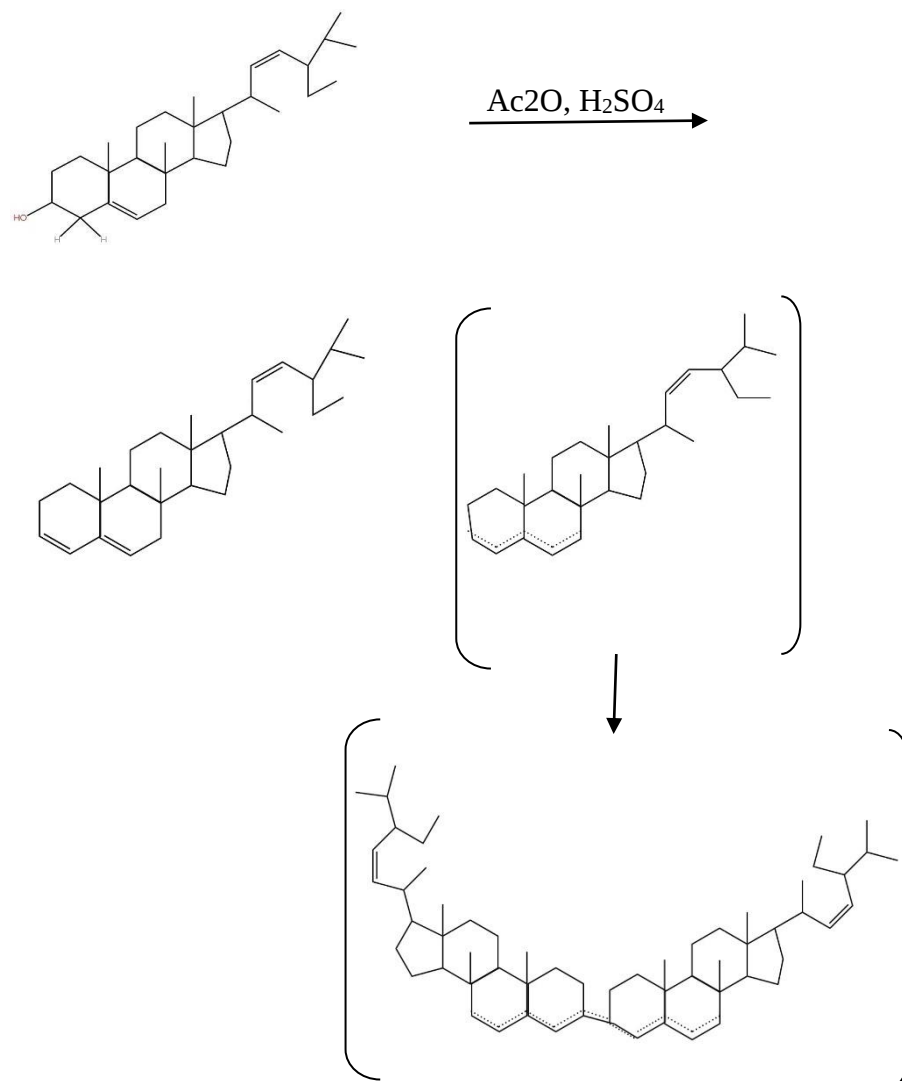


Bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan bismut (III) iodida, kemudian larut dalam kelebihan iodida membentuk kalium tetraiodobismutat menjadi Reagen Dragendorff (Marliana et al., 2005). Ikatan koordinat dengan logam dapat dibentuk karena senyawa alkaloid mengandung pasangan elektron bebas dan atom nitrogen. Substitusi ligan terjadi apabila terdapat reaksi antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorf membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat jika nitrogen dalam senyawa alkaloid

mengandung PEB sehingga bisa membentuk kompleks alkaloid kalium yang mengendap (Haryati dan Erwin, 2015).

Pada penelitian ini juga diperoleh hasil positif senyawa metabolit sekunder terpenoid pada ekstrak daun Palembang (*Lannea coromandelica*) dengan menggunakan pereaksi asam sulfat, asam asetat anhidrat dan etil asetat yaitu perubahan warna kuning kecoklatan. Terpenoid merupakan senyawa non polar yang mudah diekstraksi dengan pelarut non polar yaitu n-heksana. Ini ditunjukkan pada gambar 4.5.

Gambar 4.5 Reaksi dugaan pada senyawa terpenoid.



Steroid termasuk salah satu golongan senyawa metabolit sekunder. Senyawa ini memiliki aktivitas biologis seperti bioinsektisida, antifungi, anti-bakteri, dan antidiabetes. Steroid secara alami dapat ditemukan pada tumbuhan maupun hewan. Steroid yang terkandung dalam hewan berkaitan kuat dengan hormon, sedangkan pada tumbuhan dapat ditemukan dalam bentuk sterol pada tumbuhan. Tingkat tinggi maupun rendah. Dalam tumbuhan tingkat tinggi terkandung fitosterol, stigmasterol, dan kompesterol (Hesty Purbantari et.al., 2023).

Uji fitokimia metabolit sekunder golongan steroid pada penelitian ini adalah ekstrak daun Palembang (*Lannea coromandelica*) yang direaksikan dengan pereaksi asam sulfat, asam asetat anhidrat, dan etil asetat untuk mengetahui perubahan warna larutan yaitu hijau. Hasil penelitian ini positif bahwa ekstrak daun Palembang (*Lannea coromandelica*) mengandung steroid karena steroid merupakan senyawa non polar yang mudah diekstraksi dengan pelarut non polar yaitu n-heksana. Hal ini telah diidentifikasi dalam ekstrak kloroform (non polar) tanaman Palembang yang juga mengandung steroid (Joseph et al. 2013).

4.4 Uji Aktivitas Antioksidan

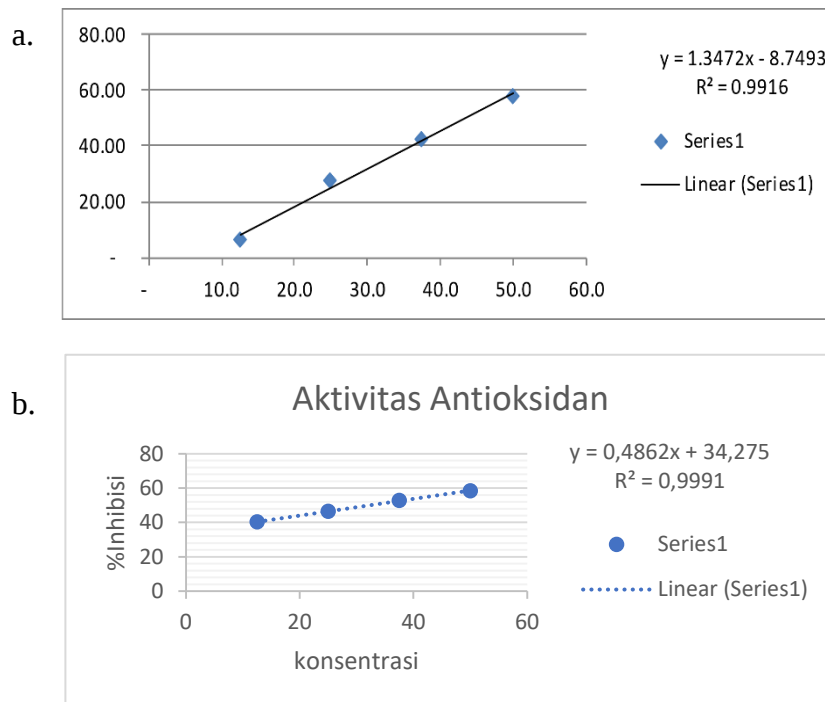
Metode yang di pakai untuk menguji aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH. Metode ini digunakan karena metodenya yang sederhana, mudah serta sampel yang digunakan berjumlah sedikit dalam jangka waktu yang singkat (Sayuti dan Yenrina, 2015). Metode

pengujian ini didasarkan pada kemampuan antioksidan dalam menetralkan radikal bebas berupa DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

DPPH adalah radikal bebas stabil yang dihasilkan dari transfer elektron pada semua molekul yang menyebabkan terjadinya dimerisasi, yang merupakan masalah bagi radikal bebas lainnya. Munculnya warna ungu disebabkan oleh delokalisasi elektron, yang terlihat pada pita serapan larutan n-heksana sekitar 512,5 nm, digunakan asam askorbat atau vitamin C sebagai pembanding. Apabila larutan DPPH dicampur dengan senyawa yang bisa mendonorkan atom hydrogen, maka bentuk DPPH tereduksi yakni 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl bertambah sehingga menyebabkan warna ungu hilang dan menjadi kuning pucat (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Analisis aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Jumlah antioksidan yang dibutuhkan untuk menurunkan konsentrasi radikal DPPH awal sebesar 50% (Parwata, et.al., 2015). Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk mengkonfirmasi dugaan uji fitokimia. Berikut hasil deteksi ekstrak n-heksana daun Palembang (*Lannea coromandelica*).

Berdasarkan hasil identifikasi yang diperoleh dengan spektrofotometer UV-Vis, panjang gelombang serapan ekstrak n-heksana ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Aktivitas antioksidan ekstrak daun Palembang (A: larutan pembanding, B: ekstrak n-Heksane).

Gambar 4.6 menjelaskan persentase aktivitas penghambatan ekstrak n-heksana daun Palembang, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin besar kemampuan sampel dalam mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas sehingga menghasilkan terbentuknya radikal yang lebih stabil. Kurva persen inhibisi menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak meningkat dibandingkan dengan rasio serapan blanko terhadap serapan sampel. Hasil kurva aktivitas antioksidan memberikan persamaan linier yang dapat ditentukan dari nilai IC_{50} . Tabel 4.3 menjelaskan nilai IC_{50} ekstrak daun Palembang.

Sample	Persamaan garis regresi	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	$y = 1.347x - 8.749$	30.62435040
Ekstrak n-Heksane	$y = 0,4862x + 34,275$	33,81025069

Pada penelitian ini digunakan sampel ekstrak n-heksana daun Palembang pada konsentrasi 12,5, 25, 37,5 dan 50 ppm yang memberikan nilai IC₅₀ dengan rata-rata sebesar 33,81025069 µg/ml pada 3x pengulangan. Sedangkan vitamin C standar pada konsentrasi 12,5, 25, 37,5 dan 50 ppm memberikan IC₅₀ sebesar 30,62 µg/ml. Penggunaan vitamin C sebagai acuan atau standar mempunyai sifat antioksidan (Syofyan et all, 2008) untuk menentukan apakah vitamin C merupakan acuan atau standar aktivitas antioksidan. Apakah ekstrak daun Palembang lebih kuat atau tidak dibandingkan dengan vitamin C.

Dalam hal ini kemampuan menangkap radikal bebas ekstrak daun palembhang masuk dalam kategori sangat kuat. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa tingkat kapasitas antioksidan dengan metode DPPH dapat diklasifikasikan berdasarkan IC₅₀. Vitamin C sebagai acuan atau kontrol positif merupakan antioksidan yang sangat kuat, namun dibandingkan dengan ekstrak daun palembhang yang dijadikan sampel dalam penelitian jauh lebih kuat, semakin rendah nilai IC₅₀ yang dihasilkan maka ekstraknya semakin baik. Antioksidan hal ini ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ vitamin C yaitu sebesar 30,62 µg/ml, karena IC₅₀ yang diperoleh kurang dari 50 µg/ml. Pada penelitian ini didapatkan nilai IC₅₀

sebesar 33,81 $\mu\text{g/ml}$. Data ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Syaifuddin (2015) pada ekstrak Bayam merah dengan pelarut etanol. Ia melaporkan hasil IC_{50} memberikan nilai 33,81 $\mu\text{g/ml}$ yang tergolong sangat kuat. Senyawa akan dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} di bawah 50 $\mu\text{g/ml}$, termasuk kuat dengan nilai IC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/ml}$, dan dikategorikan sedang dengan nilai IC_{50} antara 100-150 $\mu\text{g/ml}$, dan lemah dengan nilai IC_{50} dari 150 - 200 $\mu\text{g/ml}$.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian pemeriksaan fitokimia dan aktivitas antioksidan daun Palembhanag (*Lannea coromandelica*) di Pulau Gili Iyang Madura Besar dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan uji skrining fitokimia, ekstrak n-heksan daun Palembhang (*Lannea Coromandelica*) mengandung senyawa alkaloid, terpenoid dan steroid.
2. Hasil uji aktivitas antioksidan sampel ekstrak n-heksana daun palembhang (*Lannea coromandelica*) yang dikeringkan diangin-anginkan selama kurang lebih 8 hari menunjukkan nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, yaitu 33,81 $\mu\text{g/ml}$, dengan artian aktivitas antioksidannya termasuk sangat kuat. Sementara itu, vitamin C yang dijadikan patokan dalam pengujian antioksidan juga sangat ampuh dengan nilai IC_{50} sebesar 30,62 $\mu\text{g/ml}$ termasuk ke dalam kategori sangat kuat.

5.2 Saran

1. Peneliti berharap hasil penelitian ini dapat menjadi baik secara teoritis dan menjadi referensi yang dapat membantu, menambah pengetahuan peneliti selanjutnya serta melakukan dan mengembangkan penelitian lebih lanjut mengenai daun palembhang.

2. Daun palembhang dapat digunakan sebagai salah satu sumber antioksidan alternatif, karena merupakan salah satu jenis tumbuhan dengan aktivitas antioksidan sangat kuat yang bermanfaat bagi manusia.
3. Perlu dilakukan perbandingan pengujian antioksidan dengan metode DPPH, FRAP dan FIC yang berbeda untuk menentukan metode terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alam, B., Hossain, S., Habib, R., Rea, J., & Islam, A. (2012). Antioxidant and analgesic activities of *Lannea coromandelica* Linn. Bark extract. *International Journal of Pharmacology*, 8(4), 224–233.
2. Alam, M. B., et al. (2017). *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. induces heme oxygenase 1 (HO-1) expression and reduces oxidative stress via the p38/c-Jun N-terminal kinase-nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (p38/JNK-NRF2)-mediated antioxidant pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2).
3. Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152.
4. Andi Surya Rahayu AM, et al. " Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound n-Hexane Extract of Kayu Jawa Leaves (*Lannea coromandelica* Houtt Merr.)." *Jurnal Chemica* Vol. 20 Nomor 2 Desember 2019, 111 – 118.
5. Arifin, B & Ibrahim, S. (2018). Struktur Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
6. Astuty, E., Banna, M.Z.A, and Sumah, A.S.W. 2020. Uji antibakteri isolat endofit asal tanaman kayu jawa *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. terhadap MRSA Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 11(2): 34–39.
7. Badriyah; Achmadi, & Joelal. (2017). Kelarutan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) di Dalam Rumen Secara in Vitro. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 120-125.
8. Bintoro, A., Ibrahim, A.M., Situmeang, B., Kimia, J.K.S.T.A. & Cilegon, B. (2017). Analisa dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Daun Bidara (*Zhizipus Mauritania* L). *Jurnal I Tekimia*, 2(1), 84-94.
9. Cadar, E., Tomescu, A., Erimia, C.L., Mustafa, A. & Sîrbu, R. (2015). The Impact of Alkaloids Structure from Natural Compounds on Public Health. *European Journal of Social Science Education and Research*, 2(4), 34-39.
10. Corradini, E., Foglia, P., Giansanti, P., Gubbiotti, R., Samperi, R. & Lagana, A. (2011). Flavonoids Chemical Properties and Analytical Methodologies of Identification and Quantitation in Foods and Plants. *Natural Product Research*, 25(5), 469-495.
11. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat. Cetakan 1. Jakarta.
12. Dewoto, Hedi R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. Jakarta: Departemen Farmakologo, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
13. Ergina, E., Nuryanti, S. & Pursitasari, I.D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 165-172.

14. Fajriah, S., Darmawan, A., Sundonowo, A., & Artanti, N. 2007. Isolasi senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun benalu (*Dehdrophthoe pentandra* L. Mig) yang tumbuh pada inang Loibi-lobi. *Jurnal kimia Indonesia*. 2(1): 17-20. (Online). (12 April 2020, 12:01).
15. Falk B., A. Nini, L. Zigel, Y. Yahav, M. Aviram, J. Rivlin, L. Bentur, A. Avital, R. Dotan dan H. Blau, 2006. Effect of Low Altitude at the Dead Sea on Exercise Capacity and Cardiopulmonary, response to exercise in cystic fibrosis patients with moderate to severe lung disease *Pediatric Pulmonology*, Volume 41, Issue 3, 234–241, March.
16. Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
17. Gauniyal, P., and Teotia, U.S. 2015. Antimicrobial activity of sixteen medicinal plants against oral flora and its efficacy comparison with 2 % chlorhexidine. *International Journal of Multidisciplinary and Scientific Emerging Research*, 4(2).
18. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: ICS-UNIDO; 2008.
19. Handaya, A. (2013). Daya antimikroba infusum jambu air semarang *Syzygium samarangense* (BL) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*, in vitro. Universitas Indonesia.
20. Handayani D., N. Sayuti dan Dachriyanus. (2008). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epidioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia Nigrans*, Asal Sumatra Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008*. Lampung: Universitas Lampung.
21. Hanani, E., 2010. *Herbal Indonesia Berkhasiat*. Trubus Info kit vol 8. PT Trubus Swadaya. Jakarta.
22. Haryati, N. A., C. Saleh, dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13, pp. 35–40.
23. Herbert, R.B. 1996. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Alih Bahasa Bambang Srigandono. Penerbit IKIP Semarang Press. Semarang.
24. Husain, Nasruddin, & Rudi, L. 2019. Fitokima dan Aktifitas Antioksidan Kombinasi Imbang Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) dan Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). *Jurnal Pendidikan Kimia Universitas Halu Oleo*, 4(2), 102-109.
25. Illing, I., Safiitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Dinamika*, 08(1), 66–84.
26. Imam, M. Z., & Moniruzzaman, M. 2014. Antinociceptive effect of ethanol extract of leaves of *Lannea coromandelica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(2014), 109- 115.
27. Irene Cornelia Constanty (2021). Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi n-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Jambu Semarang (*Syzygium samarangense*). *Jurnal Kimia Riset*, Volume 6 No.1, Juni 2021.

28. Julfitriyani, Max, R., & W, D. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Foki Sabarati (*Solanum Torvum*). *Pharmacon*, 5, 95–101.
29. Juniarti Departemen Biokimia, F.K. (2011). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Makara Journal of Science*.
30. Joseph., et all. 2013. An Investigation of The Phytochemistry And InVitro Cytotoxic Effect of The Aqueous Extract of *Lannea Coromandelica* Bark. *An International Journal Of Pharmaceutical Sciences* Vol.4, Issue 4, Supl 1. ISSN: 0976- 7908.
31. Kabera, J.N., Semana, E., Mussa, A.R. & He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function, and Pharmacological Properties. *J Pharm Pharmacol*, 377-392.
32. Karyadi. (1997). Antioksidan: Resep Awet Muda dan Umur Panjang From Uji Aktivitas Antiradikal dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Daun Keladi Tikus (*Thyponium divaricatum* linn Decne). *Jurnal Stamina*, 6(Pharmachon), 51–56.
33. Kramer M.R. dan S. Godfrey, 1996. Dead Sea: Natural Oxygen Enrichment at Low Altitude, *Isr J Med Sci*. Jul.
34. Leba, M. A. U. (2017). Ekstraksi dan Real Kromatografi (cetakan pertama). Yogyakarta : Deepublish.
35. Manik, M. K., et all. (2013). A comparative study of the antioxidant, antimicrobial and thrombolytic activity of the bark and leaves of *Lannea Coromandelica*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(7), 2609–2614.
36. Marliana, D.S., Venty, S., dan Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*. Vol. 3. No. 1: 29.
37. Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*.
38. Mustapa, M.A, Taupik, M, Lalapa, AR 2019, Analisi Kadar Flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-VIS dalam Kulit Buah salak, *journal Syifa Sciences and clinical research*.
39. Ningsih, D.R. & Zufahair, K.D. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak sebagai Antibakteri. *Jurnal Molekul*, 11(1), 101-111.
40. Nugrahani, R., Andayani, Y. & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan Ipa*, 2(1).
41. Okuda, T. & Ito, H. (2011). Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plant Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. *Molecules*, 16(3), 2191-2217.

42. Paramudita, A. E., et all. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n- Heksana Kulit Batang Kayu Jawa *Lannea coromandelica* (Houtt) Merr Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound n-Hexane Extract of Kayu Jawa Bark (*Lannea coromandelica* (Hou. *Jurnal Chemica*, 18(1), 64–75.
43. Parwata, I. Rita, W.S. dan Yoga, R. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper Betle* Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*, 3: 7-13.
44. Prawirodihardjo, E. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Laut Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*). Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Uin Syarif Hidayatullah Jakarta, 39.
45. Purnamaningsih, H., Nururrozi, A. & Indarjulianto, S. (2017). Saponin: Dampak Terhadap Ternak (Ulasan). *Jurnal Peternakan Sriwijaya*, 6(2).
46. Rahayu, M., et all. (2006). Traditonal Use Of Medicinal Herbs By Local Community Of Wawonii Island, Southeast Sulawesi. *Biodiversitas Journal Of Biological Diversity*, 7(3), 245–250.
47. Rahmadani, F. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
48. Rao, V. S., et all. (2014). Hepatoprotective and Antioxidant Activity of *Lannea coromandelica* Linn. on Thioacetamide Induced Hepatotoxicity in Rats. *International Letters of Natural Sciences*, 8, 30–43.
49. Rohman, A., Riyanto, S., & Hidayati, N. K. (2007). Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L).
50. Sadeli, R. A. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl) Ekstrak Bromelian Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Universitas Sanata Dharma.
51. Sadikin, M. (2001). Pelacakan Dampak Radikal Bebas terhadap Makromolekul. Kumpulan Makalah Pelatihan: Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan. Kedokteran, Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
52. Saifudin, Azis. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: deepublish.
53. Sastrohamidjojo, H. (2001). *Dasar-Dasar Spektroskopi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
54. Satria Deky Muhammad, et all. "Antioxidant Activity Assay From Extract N-Hexane Of Lakum Fruits (*Cayratia Trifolia*) By Using Dpph (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil) Method."
55. Sayuti, K.; Rina Yenrina: *Antioksidan Alami dan Sintetik*; Andalas Univesity Press: Padang, 2015.

56. Setiono, M.H., Dewi, A.A., 2013, Penentuan Jenis Solven dan Ph Optimum pada Analisis Senyawa Delphinidin Dalam Kelopak Bunga Rosella Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis, Jurnal Teknologi Kimia.
57. Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., & Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7(9), 828–835.
58. Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
59. Wahid Arif. In Vitro Phytochemical and Biological Investigation of Plant *Lannea coromandelica* (Family: Anacardiaceae). Thesis to Department of Pharmacy, East West University. Bangladesh.
60. Warner, D. S., Sheng, H., & BatinićHaberle, I. (2004). Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *Journal of Experimental Biology*, 207(18), 3221–3231.
61. Yadav, N., Yadav, R. & Goyal, A. (2014). Chemistry of Terpenoids. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Reseach*, 27(2), 272-278.

LAMPIRAN

1.1 Preparasi Sampel

Daun Palembang

- Dicuci bersih
- Dipotong kecil-kecil
- Dikering anginkan
- Dihaluskan menggunakan blender

Serbuk halus daun palembhang

1.2 Ekstraksi Maserasi

Serbuk daun palembhang

- Ditimbang sebanyak 150 gram
- Direndam 400 ml n-heksane (3x24 jam)
- Di saring
- Di pekatkan dengan rotary evaporator (50° c)

Ekstrak pekat

1.3 Penentuan Golongan Senyawa

1.3.1 Uji Alkaloid

Ekstrak daun Palembang (20 mg)

- Dimasukkan (plat tetes)
- Ditambahkan pereaksi Dragendorff (3-5 tetes)

Warna jingga/ coklat

1.3.2 Uji Flavonoid

Ekstrak daun Palembang (20 mg)

- Dimasukkan (plat tetes)
- Ditambahkan serbuk mg dan HCl pekat
- Diaduk

Warna kuning

1.3.3 Uji Fenolik

Ekstrak daun Palembang (20 mg)

- Dimasukkan (plat tetes)
- Ditambahkan FeCl_3 (10 tetes)

Warna hitam-biru / hijau kehitaman

1.3.4 Uji Terpenoid/ Steroid

Ekstrak daun Palembang (20 mg)

- Dimasukkan (plat tetes)
- Ditambahkan etil asetat
- Diaduk
- Ditambahkan (asam asetat anhidrat)
- Ditambahkan (asam sulfat pekat)

Hijau (steroid)

Merah /kuning (terpenoid)

1.3.5 Uji Tanin

Ekstrak daun Palembang

- Dimasukkan (plat tetes)
- Ditambahkan FeCl_3 (3-4 tetes)

Merah

1.4 Uji Aktivitas Antioksidan

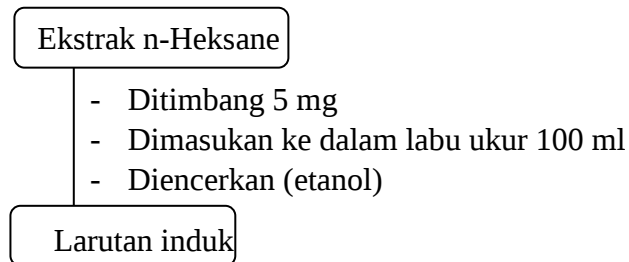
1.4.1 Penyiapan Larutan 2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil (DPPH)

Serbuk DPPH

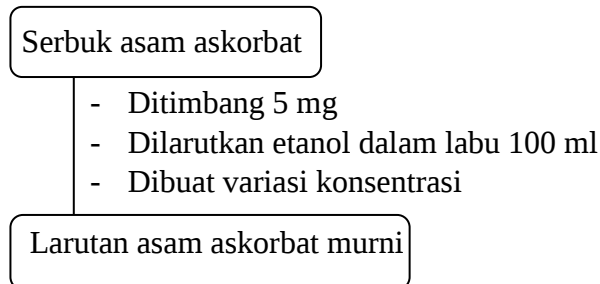
- Ditimbang 1,9716 mg
- Dimasukan ke dalam labu ukur 50 ml
- Ditambahkan etanol sampai tanda batas
- Ditutup dengan aluminium foil

Larutan DPPH

1.4.2 Penyiapan Larutan Induk Ekstrak n-Heksane

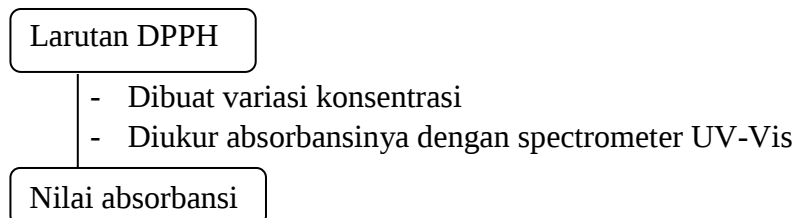


1.4.3 Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat

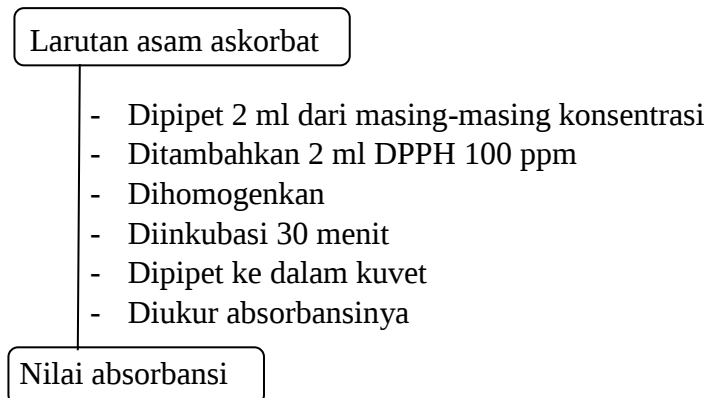


1.4.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan 1,1-Difenil-2-

Pikrihidrazil (DPPH)



1.4.5 Pengukuran Absorbansi Larutan Pembanding Asam Askorbat



1.4.6 Pengukuran Absorbansi Larutan Ekstrak n-Heksane Daun

Palembhang (*Lannea coromandelica*)

Larutan Ekstrak n-Heksane

- Dipipet 2 ml dari masing-masing konsentrasi
- Ditambahkan 2 ml DPPH 100 ppm
- Dihomogenkan
- Diinkubasi 30 menit
- Dipipet ke dalam kuvet
- Diukur absorbansinya

Nilai absorbansi

Lampiran Perhitungan

1. Pembuatan larutan DPPH (0.1 mM)

Banyaknya DPPH yang ditimbang:

$$0.1 \text{ mM} = \frac{mg}{ml} \times \frac{1000}{v}$$

$$0,1 \text{ mM} = \frac{x}{394} \times \frac{1000}{50 \text{ ml}}$$

$$X = 1.98 \text{ mg}$$

Jadi, ditimbang 1.98 mg DPHH dan dilarutkan dengan etanol serta dicukupkan volumenya hingga 50 mL

2. Pembuatan larutan induk ekstrak fraksi n-Heksana (NH)

Konsentrasi 1 ppm setara dengan 1 g/ml, sehingga untuk membuat

konsentrasi 100 ppm dapat dilakukan dengan menimbang 5 mg ekstrak

dan dicukupkan dengan etanol hingga volumenya 50 ml.

$$\frac{5 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} = \frac{500 \mu\text{g}}{\text{ml}} = 100 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} = 100 \text{ ppm}$$

3. Perhitungan larutan uji

Pembuatan larutan uji ekstrak daun palembhang dari larutan induk 100

ppm menggunakan labu ukur 50 ml.

a. Konsentrasi 12,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 12,5 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ ml}$$

Jumlah yang dipipet dari larutan induk dan diencerkan dengan etanol pada labu ukur 10 ml.

b. Konsentrasi 25 ppm

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

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

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Jumlah yang dipipet dari larutan induk dan diencerkan dengan etanol pada labu ukur 10 ml.

c. Konsentrasi 37,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 37,5 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 3,75 \text{ ml}$$

Jumlah yang dipipet dari larutan induk dan diencerkan dengan etanol pada labu ukur 10 ml.

d. Konsentrasi 50 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

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

Jumlah yang dipipet dari larutan induk dan diencerkan dengan etanol pada labu ukur 10 ml.

4. Mencari nilai antioksidan menggunakan metode dpph

a. Mencari nilai % inhibisi = $\frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$

Dik: $A_0 = 0,215$

1. Vitamin C dan ekstrak daun palembhang

- (12.5, 25, 37.5, 50 ppm) dik : $A = 0,1823$

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\% = \frac{0,215 - 0,1823}{0,1823} \times 100\% = 17,937$$

5. Mencari nilai IC₅₀

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a}$$

a : ketetapan slope

b : ketetapan intercept

a. Vitamin C

Dik : a = 1,347

b = 8,749

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a} = \frac{50-8,749}{1,347} = \frac{41,251}{1,347} = 30,6243$$

b. Daun palembhang ulangan 1

Dik : a = 0,363

b = 32,52

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a} = \frac{50-32,52}{0,363} = \frac{17,48}{0,363} = 48,1542$$

c. Daun palembhang ulangan 2

Dik : a = 0,685

b = 30,38

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a} = \frac{50-30,38}{0,685} = \frac{19,62}{0,685} = 28,6423$$

d. Daun palembhang ulangan 3

Dik : a = 0,410

b = 39,90

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a} = \frac{50-39,90}{0,410} = \frac{10,1}{0,410} = 24,6341$$