

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ULTRASONIK AIR,
METANOL, ETANOL, ETIL ASETAT DAN PETROLEUM ETER DAUN
KATUK (*Sauropus androgynus* L. Merr)**

SKRIPSI

Oleh:
ATIKA MASRIHANAH
NIM. 16630033



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ULTRASONIK AIR,
METANOL, ETANOL, ETIL ASETAT DAN PETROLEUM ETER DAUN
KATUK (*Sauropus androgynus* L. Merr)**

SKRIPSI

Oleh:
ATIKA MASRIHANAH
NIM. 16630033

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

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ULTRASONIK AIR,
METANOL, ETANOL, ETIL ASETAT DAN PETROLEUM ETER DAUN
KATUK (*Sauropus androgynus* L. Merr)**

SKRIPSI

Oleh:
ATIKA MASRIHANAH
NIM. 16630033

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal : 10 Desember 2020

Pembimbing I



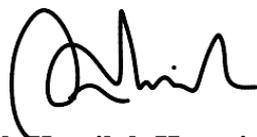
A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Pembimbing II



Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**



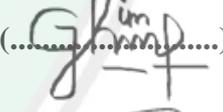
Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

HALAMAN PENGESAHAN
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ULTRASONIK AIR,
METANOL, ETANOL, ETIL ASETAT DAN PETROLEUM ETER DAUN
KATUK (*Sauropus androgynus* L. Merr)

SKRIPSI

Oleh:
ATIKA MASRIHANAH
NIM. 16630033

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 10 Desember 2020

| | | |
|---------------------------|--|--|
| Penguji Utama | : Suci Amalia, M.Sc NIP. 19821104 200901 2 007 |  (.....) |
| Ketua Penguji | : Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069 |  (.....) |
| Sekretaris Penguji | : A.Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002 |  (.....) |
| Anggota Penguji | : Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P NIP. 19750410 200501 2 009 |  (.....) |

Mengesahkan,
Ketua Jurusan



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

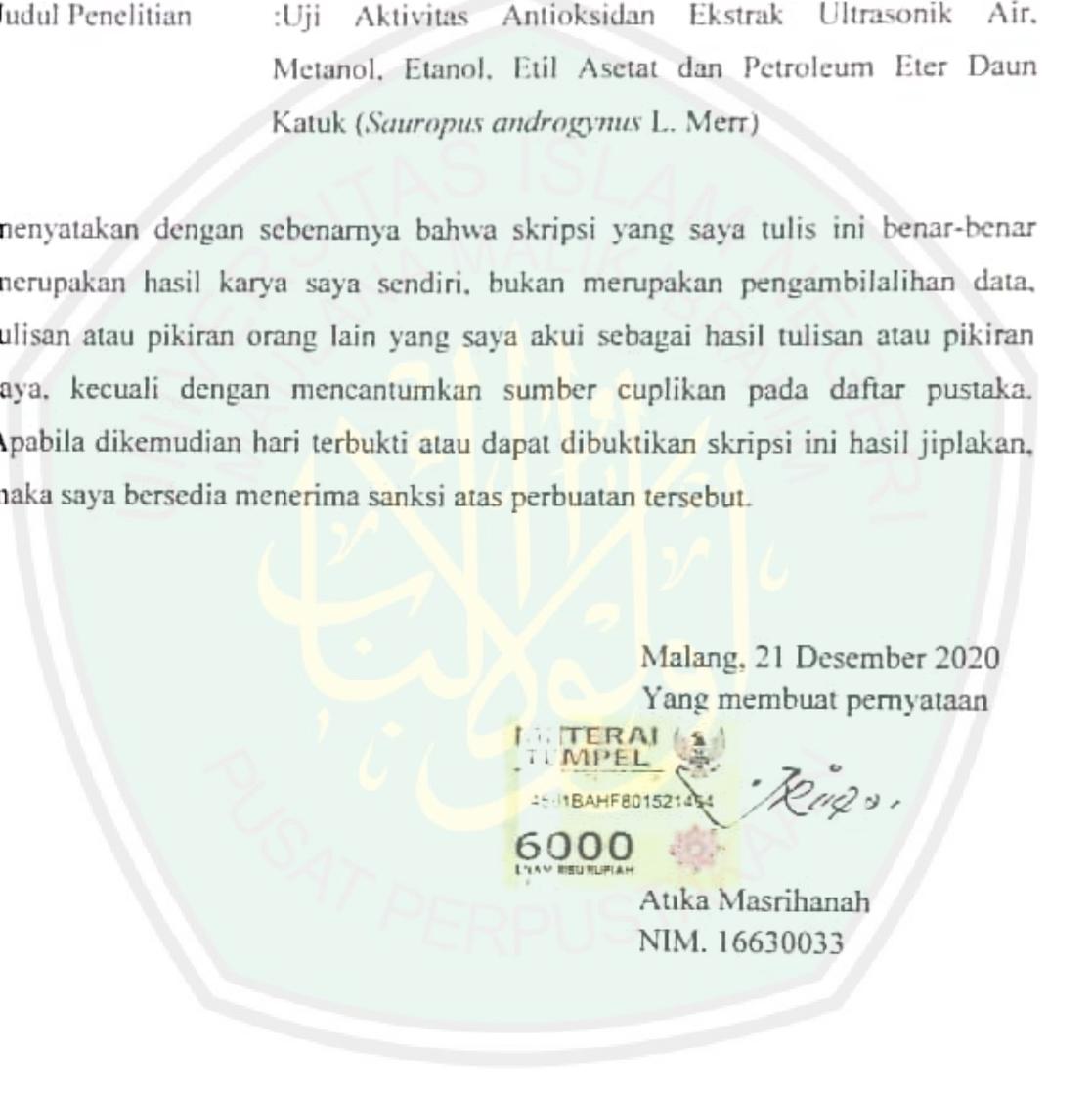
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Atika Masrihanah
NIM : 16630033
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)

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

Malang, 21 Desember 2020
Yang membuat pernyataan



6000
RUPIAH
Atika Masrihanah
NIM. 16630033

MOTTO

قَالَ رَبِّ إِنِّي وَهَنَ الْعَظْمُ مِنِّي وَاشْتَعَلَ الرَّأْسُ شَيْبًا وَلَمْ أَكُنْ بِدُعَائِكَ رَبِّ شَقِيًّا

“Dia (Zakaria) berkata, “Ya Tuhanku, sungguh tulangku telah lemah dan kepalaku telah dipenuhi uban, dan aku belum pernah kecewa dalam berdoa kepada-Mu, Ya Tuhanku”

(Q.S Maryam : 4)

Untuk menjadi luar biasa, perjuangan juga harus keluar dari kebiasaan
Dipaksa, Terpaksa, Terbiasa
--Tahfidz AHAF--

Karena untuk mengejar yang istimewa, kamu harus rela meninggalkan yang istimewa, mengejar yang istimewa dan memperjuangkan yang istimewa
--Atika Masrihanah--

Jika kamu sudah merasa pasrah tapi hatimu masih gundah, pasrahkan lagi, masih gundah, pasrahkan lagi, masih gundah, pasrahkan lagi, sampai pasrahmu tak bertujuan apapun kecuali Dia
--Mbak Zakiyah--

كُتِبَ عَلَيْكُمُ الْقِتَالُ وَهُوَ كُرْهُ لَكُمْ وَعَسَى أَنْ تَكْرَهُوا شَيْئًا وَهُوَ خَيْرٌ لَكُمْ وَعَسَى أَنْ تُحِبُّوا شَيْئًا وَهُوَ شَرٌّ لَكُمْ وَاللَّهُ يَعْلَمُ وَلَنْتُمْ لَا تَعْلَمُونَ

“Diwajibkan atas kamu berperang, padahal itu tidak menyenangkan bagimu. Tetapi boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(Q.S Al-Baqarah : 216)

Karena kita memang hanya akan dipertemukan dengan apa-apa yang kita cari
--Buya Hamka--

HALAMAN PERSEMBAHAN

Niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman diantaramu dan orang yang diberi ilmu beberapa derajat (Q.S Al-Mujadilah : 11)
Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan ? (Q.S ar-Rahman:13)

Alhamdulillahirobbil'alamin..

Sujud syukur dan puji tiada henti kepada Allah Yang Maha Agung, yang telah menggariskan takdir terbaik dari butir-butir harapan yang tak pernah lelah untuk kulangkitkan. Sutradara terbaik yang mampu membawaku sekuat ini untuk sampai pada titik awal bagiku menuju impian-impian besarku.

Lantunan Al-Fatihah beriring shalawat serta doa tiada henti, kupersembahkan karya kecil ini untuk Ibundaku tercinta, Siti Maghfuroh yang telah lebih dulu menuju surga Allah. Semoga Allah menghadiahkan ibu surga firdaus, surga tanpa hisab karena kasih sayangmu, ridhomu, serta doamu yang tiada henti, yang mampu merayu Tuhanku untuk memudahkan segala tawakalku.

Kepada ayahanda tercinta, bapak Sarban tak mudah untuk kutemukan kata-kata yang dapat kurangkai untuk mengungkapkan rasa terima kasih untuk setiap kasih sayang, doa, dorongan, kekuatan, ridho dan kelapangan hati yang mampu membimbingku sampai pada titik ini. Semoga Allah hadiahkan kepada kita surga tanpa hisab yang mampu membawa kita berkumpul kembali bersama ibu.

Kepada adikku tersayang, Yusron Alfa Rizqi, terima kasih telah menjadi kuat, menjadi penguat, menjadi malaikat kecil yang selalu bisa menghibur, menjadi sholeh, menjadi lelaki terbaik setelah bapak. Semoga Allah menggariskan takdir terbaik untukmu seperti doa dalam nama indah pemberian ibu.

Untuk kamu, Indra Nur Cahyo, terima kasih untuk setiap pelajaran, pengajaran, dan doa baik yang membuatku banyak belajar dari segala sisi. Semoga Allah pilihkan takdir terbaik untuk doamu dan doaku.

Untuk orang-orang baik yang Allah kirimkan untuk menemani perjuanganku, Hanif Nur Rozaq, A'yunina Faidatul Nuzula, Fatichatul Burhaniyah dan Fina Ulin Nikmah. Terima kasih untuk setiap doa baik, perhatian, kasih sayang dan waktu yang kalian luangkan sejak aku merantau disini hingga sampai pada detik ini, dimana aku tak pernah merasa takut karena adanya kalian.

Kawan seperjuangan, partner Katuk squad Titis Budiningtyas, Organik squad (Ismi, Pipid, Vivi, Vinna, Vivi, Ani, Ainun, Hasan, Vera, Neas, Yuni, Umhas), Kimia 2016, santri Tahfidz dan seluruh santri PPP Al-Hikmah Al-Fathimiyyah Malang. Terima kasih telah menjadi bagian dalam kehidupanku. Semoga kita dapat dipertemukan dengan cerita hebat dari masing-masing kita.

Untuk ribuan tujuan yang harus diperjuangkan, untuk jutaan impian yang harus diwujudkan, untuk setiap pengharapan yang harus diusahakan. Terima kasih, dengan kerendahan hati karya kecil ini kupersembahkan. by_Atika

KATA PENGANTAR

Dengan iringan rasa syukur kehadirat Allah SWT. atas limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Penelitian dengan judul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus androgynus L. Merr*)”**. Skripsi ini mampu memberikan banyak manfaat bagi penulis baik dari segi keilmuan maupun pengalaman yang sangat berguna bagi penulis.

Tidak ada pekerjaan yang dapat terselesaikan tanpa bantuan dari pihak lain demikian juga skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian laporan hasil ini, khususnya kepada :

1. Orang tua tercinta Bapak Sarban, Ibu Siti Maghfuroh dan adik Yusron Alfa Rizqi yang telah banyak memberikan perhatian, kasih sayang, nasihat, doa dan dukungan baik materi maupun moril yang tak mungkin terbalaskan,
2. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang,
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang,
4. Bapak Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing yang dengan sabar memberikan dorongan semangat serta bimbingan dengan penuh keikhlasan,
5. Ibu Akyunul Jannah, S.Si., M.P selaku dosen pembimbing agama serta dosen wali selama menuntut ilmu di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang,

6. Kelas A Kimia 2016, mahasiswa Kimia angkatan 2016 serta santriwati Pondok Pesantren Putri Al-Hikmah Al-Fathimiyyah Malang, khususnya teman-teman satu tim penelitian bahan alam yang senantiasa memberikan motivasi dan dukungan selama penyusunan laporan hasil penelitian ini.
7. Segenap pihak yang memberikan bantuan dalam menyelesaikan penyusunan proposal ini baik berupa materi maupun motivasi.

Sebagai akhir kata mudah–mudahan amal baik semua pihak yang telah membantu penulis mendapatkan imbalan pahala yang berlipat ganda dari Allah SWT. Aamiin. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu dengan kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun guna perbaikan dan peningkatan proposal di tahun–tahun yang akan datang. Semoga laporan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan kepada semua pihak yang berkompeten dalam dunia pendidikan.

Malang, 23 Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | iv |
| MOTTO | v |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | vi |
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| ABSTRAK | xiv |
| ABSTRACT | xv |
| مستخلص البحث | xvi |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 7 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 7 |
| 1.4 Batasan Masalah..... | 8 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 8 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 9 |
| 2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam | 9 |
| 2.2 Tumbuhan Katuk (<i>Sauropus androgynus</i> L. Merr)..... | 12 |
| 2.2.1 Deskripsi dan Morfologi Umum Tumbuhan Katuk | 12 |
| 2.2.2 Kandungan dan Manfaat Senyawa Aktif Tumbuhan Katuk | 13 |
| 2.3 Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Katuk..... | 16 |
| 2.3.1 Alkaloid..... | 16 |
| 2.3.2 Flavonoid | 19 |
| 2.3.3 Tanin | 21 |
| 2.3.4 Saponin..... | 22 |
| 2.3.5 Triterpenoid..... | 24 |
| 2.3.6 Steroid | 26 |
| 2.4 Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan..... | 27 |
| 2.4.1 Radikal Bebas..... | 27 |
| 2.4.2 Antioksidan | 29 |
| 2.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH | 32 |
| 2.5 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Daun Katuk | 35 |
| 2.5.1 Ekstraksi Ultrasonik | 35 |
| 2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis | 37 |
| 2.6 Identifikasi Senyawa Metabolit dengan Spektrofotometer FT-IR | 40 |
| | |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 43 |
| 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian | 43 |
| 3.2 Alat dan Bahan..... | 43 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.1 Alat..... | 43 |
| 3.2.2 Bahan | 43 |
| 3.3 Tahapan Penelitian | 43 |
| 3.4 Cara Kerja | 44 |
| 3.4.1 Preparasi Sampel..... | 44 |
| 3.4.2 Analisis Kadar Air secara Thermogravimetri | 44 |
| 3.4.3 Ekstraksi Ultrasonik <i>Sauropus androgynus</i> L. Merr..... | 45 |
| 3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH | 45 |
| 3.4.5 Uji Fitokimia | 47 |
| 3.4.6 Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLT Analitik | 48 |
| 3.4.7 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR..... | 51 |
| 3.5 Analisis Data | 51 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 53 |
| 4.1 Preparasi Sampel..... | 53 |
| 4.2 Analisis Kadar Air secara Thermogravimetri | 53 |
| 4.3 Ekstraksi Ultrasonik <i>Sauropus androgynus</i> L. Merr..... | 54 |
| 4.4 Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH | 55 |
| 4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 55 |
| 4.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel..... | 56 |
| 4.5 Uji Fitokimia | 58 |
| 4.6 Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLT Analitik | 60 |
| 4.6.1 Alkaloid..... | 60 |
| 4.6.2 Flavonoid | 62 |
| 4.6.3 Tanin | 65 |
| 4.6.4 Triterpenoid..... | 67 |
| 4.7 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan FT-IR | 70 |
| 4.7.1 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Air Daun Katuk | 70 |
| 4.7.2 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Metanol Daun Katuk | 72 |
| 4.7.3 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Etanol Daun Katuk | 73 |
| 4.7.4 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Etil Asetat Daun Katuk..... | 75 |
| 4.7.5 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Petroleum Eter Daun Katuk..... | 76 |
| 4.8 Pemanfaatan Tumbuhan Katuk dalam Perspektif Agama Islam..... | 79 |
| BAB V PENUTUP..... | 84 |
| 5.1 Kesimpulan | 84 |
| 5.2 Saran..... | 84 |
| DAFTAR PUSTAKA | 85 |
| LAMPIRAN..... | 99 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 2.1 Kandungan nutrisi tumbuhan Katuk | 13 |
| Tabel 2.2 Penelitian aktivitas antioksidan daun Katuk | 15 |
| Tabel 2.3 Ketentuan aktivitas antioksidan | 34 |
| Tabel 2.4 Penelitian penggunaan ekstraksi ultrasonik pada berbagai sampel | 36 |
| Tabel 2.5 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut..... | 37 |
| Tabel 2.6 Serapan gugus fungsi pada spektrofotometer inframerah..... | 41 |
| Tabel 4.1 Hasil ekstrak pekat daun Katuk dengan variasi pelarut..... | 54 |
| Tabel 4.2 Hasil % aktivitas antioksidan dan nilai IC ₅₀ ekstrak daun Katuk pada variasi pelarut dan perbandingan asam askorbat..... | 57 |
| Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia ekstrak daun Katuk | 59 |
| Tabel 4.4 Data penampakan noda dugaan senyawa alkaloid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen | 61 |
| Tabel 4.5 Dugaan senyawa alkaloid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen kloroform : metanol (9:1)..... | 62 |
| Tabel 4.6 Data penampakan noda dugaan senyawa flavonoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen..... | 63 |
| Tabel 4.7 Dugaan senyawa flavonoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)..... | 64 |
| Tabel 4.8 Data penampakan noda dugaan senyawa tanin ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen | 65 |
| Tabel 4.9 Dugaan senyawa tanin ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen n-heksana : etil asetat (19:1)..... | 66 |
| Tabel 4.10 Data penampakan noda dugaan senyawa triterpenoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen..... | 67 |
| Tabel 4.11 Dugaan senyawa triterpenoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen n-heksana : etil asetat (15:5)..... | 68 |
| Tabel 4.12 Interpretasi spektra FTIR ekstrak air daun Katuk..... | 71 |
| Tabel 4.13 Interpretasi spektra FTIR ekstrak metanol daun Katuk | 72 |
| Tabel 4.14 Interpretasi spektra FTIR ekstrak etanol daun Katuk | 74 |
| Tabel 4.15 Interpretasi spektra FTIR ekstrak etil asetat daun Katuk..... | 75 |
| Tabel 4.16 Interpretasi spektra FTIR ekstrak petroleum eter daun Katuk..... | 77 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Tanaman Katuk (<i>Sauropus androgynus</i> L. Merr) | 12 |
| Gambar 2.2 Contoh struktur alkaloid | 17 |
| Gambar 2.3 Reaksi hidrolisis bismut | 18 |
| Gambar 2.4 Reaksi dugaan alkaloid dengan reagen Dragendroff..... | 18 |
| Gambar 2.5 Reaksi dugaan alkaloid dengan reagen Mayer..... | 19 |
| Gambar 2.6 Contoh struktur flavonoid | 20 |
| Gambar 2.7 Reaksi dugaan flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat..... | 21 |
| Gambar 2.8 Struktur kimia tanin..... | 21 |
| Gambar 2.9 Reaksi dugaan senyawa tanin dan FeCl ₃ | 22 |
| Gambar 2.10 Struktur inti steroid spiroketal..... | 23 |
| Gambar 2.11 Reaksi hidrolisis saponin dalam air..... | 23 |
| Gambar 2.12 Struktur kimia triterpenoid | 24 |
| Gambar 2.13 Reaksi dugaan senyawa terpenoid dengan reagen Liebermann- Burchard..... | 25 |
| Gambar 2.14 Struktur dasar steroid dan sistem penomoran | 26 |
| Gambar 2.15 Reaksi dugaan senyawa steroid dengan reagen Libermann-Burchard | 27 |
| Gambar 2.16 Struktur Asam askorbat atau vitamin C | 30 |
| Gambar 2.17 Reaksi Asam askorbat dengan DPPH | 30 |
| Gambar 2.18 <i>Butilated Hidroxy Toluena</i> (BHT) | 31 |
| Gambar 2.19 Reaksi dugaan DPPH dengan antioksidan | 33 |
| Gambar 4.1 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM 56 | |
| Gambar 4.2 Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen kloroform : metanol (9:1).. | 62 |
| Gambar 4.3 Hasil KLTA senyawa flavonoid ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)..... | 64 |
| Gambar 4.4 Hasil KLTA senyawa tanin ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen n-heksana : etil asetat (19:1) | 66 |
| Gambar 4.5 Hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen n-heksana : etil asetat (15:5)..... | 68 |
| Gambar 4.6 Hasil spektra FTIR (a) ekstrak air daun Katuk | 70 |
| Gambar 4.7 Hasil spektra FTIR ekstrak (b) metanol daun Katuk..... | 72 |
| Gambar 4.8 Hasil spektra FTIR (c) ekstrak etanol daun Katuk..... | 73 |
| Gambar 4.9 Hasil spektra FTIR (d) ekstrak etil asetat daun Katuk | 75 |
| Gambar 4.10 Hasil spektra FTIR (e) ekstrak petroleum eter daun Katuk | 76 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|-----|
| Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian..... | 99 |
| Lampiran 2. Skema Kerja | 100 |
| Lampiran 3. Perhitungan..... | 107 |
| Lampiran 4. Data Pengamatan dan Perhitungan | 113 |
| Lampiran 5. Data Instrumentasi UV-Vis dan FTIR..... | 136 |
| Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian..... | 139 |



ABSTRAK

Masrihanah, A. 2020. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Pembimbing II: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.

Kata kunci : Aktivitas antioksidan, *Sauropus androgynus* L. Merr, ekstraksi ultrasonik, *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*

Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) merupakan tumbuhan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai tanaman obat. Tumbuhan ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang mengakibatkan adanya aktivitas farmakologis yang beragam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan daun Katuk pada variasi pelarut dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder daun Katuk yang dapat memberikan aktivitas antioksidan. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder daun Katuk dilakukan dengan metode ultrasonik menggunakan variasi pelarut air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter. Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut diuji aktivitas antioksidannya dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Identifikasi senyawa aktif daun Katuk dilakukan dengan uji fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) dan spektrofotometer FT-IR. Hasil dari uji aktivitas antioksidan daun Katuk menunjukkan hasil tertinggi pada ekstrak etil asetat daun Katuk dengan nilai IC_{50} 43,67 ppm. Sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak air, metanol, etanol dan petroleum eter daun Katuk menghasilkan nilai IC_{50} berturut-turut 1624; 829,8; 329,9; 43,67 dan 75,39 ppm. Hasil dari uji fitokimia daun Katuk menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan steroid. Identifikasi menggunakan FTIR menunjukkan adanya serapan gugus fungsi O-H, -CH₃, -CH₂, C=C dan C-N.

ABSTRACT

Masrihanah, A. 2020. **Antioxidant Activity Test of Ultrasonic Extract of Water, Methanol, Ethanol, Ethyl Acetate and Petroleum Katuk Leaves (*Sauropus androgynus* L. Merr).** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Advisor II: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.

Keywords : Antioxidant activity, *Sauropus androgynus* L. Merr, ultrasonic extraction, *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*

Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) is a plant that is often used by the community as a medicinal plant. This plant contains secondary metabolites which cause various pharmacological activities. The purpose of this experiment is to determine the antioxidant activity of Katuk leaves in variety of solvents with the *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) method and to determine the class of Katuk leaves secondary metabolite compounds that can provide antioxidant activity. The extraction of secondary metabolites from Katuk leaves was carried out by ultrasonic methods using variations of water, methanol, ethanol, ethyl acetate and petroleum ether as solvents. The extracts obtained from each solvent were tested for their antioxidant activity using the *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) method. Identification of the active compound Katuk leaves was carried out by phytochemical tests, Analytical Thin Layer Chromatography (KLTA) and FT-IR spectrophotometer. The results of the antioxidant activity of Katuk leaves showed the highest yield on the ethyl acetate extract of Katuk leaves with an IC_{50} value of 43.67 ppm. While the antioxidant activity of the extracts of water, methanol, ethanol and petroleum ether of Katuk leaves resulted in IC_{50} values of 1624; 829.8; 329.9; 43.67 dan 75.39 ppm. The results of the phytochemical test of Katuk leaves showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, triterpenoids and steroids. Identification using FTIR shows the absorption of functional groups O-H, -CH₃, -CH₂, C=C and C-N.

مستخلص البحث

مسرّجحة٤٠٢٠٢٠ اختبار نشاط مضادات الأكسدة من الماء والميثانول والإيثانول واخلات الإيثيل والإيثرات البنزولية لأوراق الصوتيمة كاتوك (*Sauropus androgynus* L. Merr). البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة الدولة الإسلامية مولا مالك إبراهيم مالانج. المستشار الأول: أحمد غنيم فشا؛ المستشار الثاني: أعيون الجنة.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة، *Sauropus androgynus* L. Merr، الاستخراج لموجات فوق الصوتية، *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*

كاتوك (*Sauropus androgynus* L. Merr) هو نبات يستخدمه المجتمع غالبًا كنبات طبي. يحتوي هذا النبات على مركبات مستقلب نوية تؤدي إلى أنشطة دوائية مختلفة. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد للأكسدة لأوراق الكاتوك في المذيبات المختلفة استخدام طريقة *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) وتحديد فئة المستقلبات الثانوية لأوراق الكاتوك التي يمكن أن توفر نشاطا مضادا للأكسدة. تم استخلاص المستقلبات الثانوية من أوراق كاتوك استخدام طرق الموجات فوق الصوتية ستخدرات أشكال مختلفة من الماء و الميثانول و خللات الإيثيل و الإيثرولي كمذيبات. المذيبات المستخدمة هي الماء والميثانول والأيثانول وخللات الإيثيل وإيثر البنزول. تم اختبار المستخلص الذي تم الحصول عليه من كل مذيب لمعرفة نشاطه المضاد للأكسدة استخدام طريقة *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). تم التعرف على المركب الفعال أوراق كاتوك عن طريق الاختبارات الكيميائية النباتية، التحليل اللوني للطبقة الرقيقة (TCL) و مقياس الطيف الضوئي FTIR. أظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة لأوراق الكاتوك أعلى إنتاجية على مستخلص أسيتات الإيثيل لأوراق الكاتوك بقيمة IC_{50} ٤٣،٦٧ جزء في المليون. بينما أدى النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الماء والميثانول والإيثانول والإيثر البنزولي لأوراق كاتوك إلى قيم IC_{50} قدرها ١٦٢٤؛ ٨٢٩،٨؛ ٣٢٩،٩ و ٧٥،٣٩ جزء في المليون. أظهرت نتائج الاختبار الكيميائي النباتي لأوراق الكاتوك وجود قلويدات وفلافونويد وعفص وترينزينويد وسترويدات. يُظهر تحديد الهوية استخدام FTIR امتصاص المجموعات الوظيفية O-H، -CH₃، C-N و CH₂، C=C

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak ditemui di Asia Tenggara. Katuk tidak hanya mudah ditemui, namun tumbuhan ini relatif mudah ditanam, waktu produksi relatif pendek, produksi melimpah, serta sangat sedikit diserang hama dan penyakit (Sanjayasari & Pliliang, 2011). Sejak dahulu, Katuk telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional sakit tenggorokan, demam, sembelit, meningkatkan produksi ASI, mengobati bisul dan penyembuhan luka (Arista, 2013; Bunawan & Bunawan, 2015). Sesuai dengan Firman Allah SWT dalam Q.S. al An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي لَنَزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ
حَبًّا مُهَرَّاكِيًّا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ
مُشْتَبِهًا وَعَيْرٍ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ (٩٩)

[الأنعام: ٩٩]

Artinya :“Dan Dialah yang menurunkan air dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang bersusun, dan dari mayang kurma, mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah, dan menjadi masak. Sungguh, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”(Q.S. al An'am : 99).

Kata *fa akhrajā bihī nabaata kulli syai'in fa akhrajnaa minhu khadliran* yaitu tanaman-tanaman dan pepohonan yang hijau, dan setelah itu Kami menciptakan di dalamnya biji-bijian dan buah-buahan (Katsir, 2003). Oleh karena itu Allah SWT berfirman *Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang bersusun* maksudnya bersusun antara satu dan lainnya, seperti bulir (misalnya pada padi) dan yang lainnya. *Dan dari mayang kurma, mengurai tangkai-tangkai yang menjulai*. Kata *qinwanuun* merupakan jamak dari kata *qinwun* yang berarti tandan kurma. “*Yang menjulai*” maksudnya mudah dijangkau oleh orang yang memetikinya (Katsir, 2003). Hal ini menunjukkan bahwa Allah SWT memberikan kemudahan bagi manusia untuk memanfaatkan segala sesuatu yang telah diciptakan sesuai dengan kegunaannya. Salah satu tumbuhan yang Allah SWT sediakan bagi kebutuhan manusia adalah tumbuhan Katuk.

Dalam tafsir *al-Mishbah* menjelaskan bahwa ayat ini merupakan lanjutan bukti-bukti kemahakuasaan Allah SWT dari ayat-ayat sebelumnya. Ayat ini menguraikan kumpulan hal-hal yang disebut sebelumnya, bermula dengan menegaskan bahwa *Dan Dia* juga bukan yang selain-Nya yang *telah menurunkan air*, yakni dalam bentuk hujan yang deras dan banyak *dari langit, lalu Kami*, yakni Allah SWT, *mengeluarkan*, yakni menumbuhkan *disebabkan olehnya*, yakni akibat turunnya air itu *segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan darinya*, yakni dari tumbuh-tumbuhan itu *tumbuhan yang menghijau*. Untuk lebih menjelaskan kekuasaan-Nya ditegaskan lebih jauh bahwa, *Kami keluarkan darinya*, yakni dari tanaman yang menghijau itu *butir yang saling bertumpuk*, yakni banyak, padahal sebelumnya ia hanya satu biji atau benih.

Ayat tersebut menyebut terlebih dahulu tumbuh-tumbuhan kemudian menyebut empat jenis buah, yaitu kurma, anggur, zaitun dan delima. Menurut Fakhrudin ar-Razi penyebutan dengan susunan seperti itu sungguh sangat serasi dan tepat. Bahwa tumbuhan yang terlebih dulu disebut karena ia adalah makanan. Hasil tanaman adalah buah-buahan. Ini wajar disebut sesudahnya karena makanan lebih utama dari buah-buahan (Shihab, 2002). Hal ini sesuai dengan adanya tumbuhan Katuk yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayuran.

Tumbuhan Katuk merupakan salah satu tumbuhan dengan kandungan nutrisi tinggi. Daun Katuk segar merupakan sumber provitamin A, karotenoid, vitamin B, vitamin C, protein dan mineral yang sangat baik, dimana daun Katuk tua memiliki kandungan nutrisi yang lebih banyak dibanding daun Katuk muda (Nahak & Sahu, 2010). Selain mengandung senyawa metabolit primer, daun Katuk juga mengandung senyawa metabolit sekunder yang beragam. Penelitian Nurdianti dan Tuslinah (2017) membuktikan bahwa daun Katuk positif mengandung polifenol, steroid, kuinon, triterpenoid, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid. Adanya senyawa metabolit sekunder dalam daun Katuk menyebabkan adanya aktivitas farmakologis yang beragam.

Penelitian senyawa bioaktif tanaman Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menunjukkan bahwa tumbuhan ini mempunyai aktivitas farmakologis seperti antiinflamasi (Lee, dkk., 2011), antibakteri (Anggraeni, 2016), antioksidan (Zuhra, dkk., 2008; Arista, 2013; Nurdianti & Tuslinah, 2017), antiobesitas (Patonah, dkk., 2017) dan antistress (Hegde & Divya, 2015). Aktivitas farmakologis yang beragam tersebut disebabkan oleh adanya kandungan metabolit sekunder di dalam daun Katuk.

Senyawa metabolit sekunder dikenal sebagai senyawa yang berpotensi sebagai obat, salah satunya adalah sebagai agen antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menunda atau mencegah terjadinya oksidasi dari substrat yang mudah teroksidasi (Winarsi, 2007). Antioksidan dapat melawan pengaruh radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi dalam tubuh (Amrun, dkk., 2007). Antioksidan secara alami dihasilkan dalam tubuh, namun jumlahnya sangat sedikit dibandingkan dengan radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh. Oleh karena itu, diperlukan sumber antioksidan yang berasal dari luar tubuh.

Sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun alami, contoh dari antioksidan sintetik adalah asam benzoat, BHA (*Butilated Hidroxy Anisol*), BHT (*Butilated Hydroxy Toluene*) dan TBHQ (*Tert-Butil Hydroxy Quinon*). Namun, penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena bersifat karsinogenik dan berbahaya bagi kesehatan (Andarwulan, dkk., 1996). Oleh karena itu, mulai dilakukan penelitian-penelitian yang bertujuan untuk menemukan sumber-sumber antioksidan alami. Zuhra, dkk. (2008) telah melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan senyawa flavonoid ekstrak metanol daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menghasilkan nilai IC_{50} 80,81 ppm. Dalam penelitian Nurdianti dan Tuslinah (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun Katuk menghasilkan nilai IC_{50} 32,04 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa daun Katuk mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Identifikasi senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan pada daun Katuk diawali dengan ekstraksi ultrasonik. Kelebihan dari

ekstraksi ultrasonik adalah waktu ekstraksi lebih singkat, efisiensi lebih tinggi, aman, penggunaan energi kecil dan mampu meningkatkan jumlah rendemen. Ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan variasi pelarut berdasarkan tingkat polaritasnya. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter. Perbedaan polaritas pelarut akan menghasilkan perbedaan jumlah randemen dan jenis metabolit sekunder daun Katuk. Hal tersebut menyebabkan sifat antioksidan yang dimiliki oleh setiap senyawa yang diperoleh dari hasil ekstraksi juga berbeda (Huliselan, dkk., 2015).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun Katuk dapat diketahui melalui uji fitokimia. Laveena dan Chandra (2018) mengemukakan bahwa ekstrak air, etanol dan metanol daun Katuk mengandung karbohidrat, protein, asam amino, glikosida, senyawa fenol, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid. Zuhra, dkk. (2008) mengemukakan bahwa hasil skrining pendahuluan ekstrak metanol daun Katuk mengandung senyawa flavonoid. Sanjayasari dan Piliang (2011) mengemukakan bahwa hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun Katuk menunjukkan adanya senyawa fenolik, alkaloid dan steroid. Nurdianti dan Rahmiyani (2016) menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia ekstrak etil asetat daun Mangga mengandung senyawa golongan fenol, terpenoid dan flavonoid. Sastrawan, dkk. (2013) juga telah melakukan uji fitokimia terhadap ekstrak petroleum eter biji adas yang menunjukkan adanya flavonoid, tanin dan saponin. Hasil penelitian di atas menjadi dasar penggunaan pelarut air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter untuk mengekstrak daun Katuk. Proses ekstraksi pada penelitian ini, diharapkan dapat mengekstrak senyawa-senyawa dengan variasi yang tidak jauh berbeda dengan penelitian-penelitian tersebut.

Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut mengandung campuran dari beberapa senyawa metabolit sekunder. Hal ini disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder dapat larut sesuai dengan polaritas pelarut yang digunakan. Oleh karenanya, analisis senyawa hasil ekstraksi ultrasonik dari masing-masing pelarut dimonitoring dengan uji fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Towsand (1995) mengemukakan bahwa KLT analitik dapat digunakan untuk menganalisa senyawa organik dalam jumlah kecil, salah satunya adalah menentukan jumlah komponen senyawa metabolit sekunder. KLT analitik juga dapat digunakan untuk menentukan eluen terbaik dalam memisahkan senyawa metabolit sekunder. Ekstrak kasar hasil ekstraksi ultrasonik diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FT-IR. Ekstrak dari masing-masing pelarut diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

Metode DPPH (*1,1-difenil-2-picrylhydrazyl*) merupakan metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari suatu bahan uji. Metode ini dipilih karena memiliki kelebihan diantaranya sederhana, mudah, cepat, peka, memerlukan sedikit sampel serta dapat mengukur efektivitas total antioksidan dalam pelarut polar maupun nonpolar. Molyneux (2004) menyatakan bahwa DPPH merupakan suatu radikal bebas yang stabil selama bertahun-tahun jika disimpan dalam keadaan kering dan kondisi penyimpanan yang baik.

Nahak dan Sahu (2010) telah melakukan penelitian aktivitas antioksidan tanaman multivitamin (*Sauropus androgynus* L. Merr) menggunakan pelarut etanol, metanol dan air dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibanding ekstrak metanol dan air. Aktivitas peredaman radikal DPPH dan OH^\bullet tertinggi ekstrak

etanol didapatkan nilai % peredaman sebesar $62,90 \pm 0,03\%$ dan $54,36 \pm 0,03\%$ diikuti ekstrak metanol sebesar $53,67 \pm 0,04\%$ dan $44,67 \pm 0,04\%$ serta ekstrak air sebesar $48,48 \pm 0,03\%$ dan $36,55 \pm 0,08\%$. Sehingga dapat diketahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Katuk dengan nilai IC_{50} $0,016$ mg/mL.

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian pengujian aktivitas antioksidan daun Katuk akan dilakukan dengan menggunakan daun Katuk dari Desa Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Malang. Daun Katuk pada penelitian ini diekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter. Ekstrak kasar dari masing-masing pelarut diidentifikasi senyawa aktifnya menggunakan uji fitokimia dan KLT analitik. Hasil ekstrak kasar yang diperoleh diidentifikasi dengan instrumen FTIR serta diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) pada variasi pelarut?
2. Apakah golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) hasil ultrasonik pada variasi pelarut?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) pada variasi pelarut.

2. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) hasil ultrasonik pada variasi pelarut

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Sampel yang digunakan adalah daun dari tanaman Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) yang diperoleh dari Kota Malang, Jawa Timur.
2. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH.
3. Ekstrak kasar daun Katuk masing-masing pelarut dilakukan uji fitokimia.
4. Pemisahan senyawa aktif ekstrak kasar daun Katuk dan penentuan eluen terbaik dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis analitik (KLTA)
5. Identifikasi gugus fungsi senyawa aktif ekstrak kasar daun Katuk dilakukan menggunakan spektrofotometer FT-IR.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan pengetahuan baru kepada peneliti serta masyarakat luas mengenai senyawa aktif daun tanaman Katuk yang berpotensi dalam mengobati berbagai macam penyakit salah satunya sebagai antioksidan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu keanekaragaman hayati yang dapat ditemui dengan mudah di wilayah Indonesia. Tumbuhan tersebut disediakan oleh Allah SWT guna memenuhi kebutuhan manusia sebagai sayuran dan tanaman obat. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Q.S. An Nahl ayat 11.

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ (النحل: ١١)

Artinya : “Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untuk kamu tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berfikir” (Q.S. An Nahl : 11).

Kata *yumbitu lakum bihizzar'a wazz-zaituna wan-nakhila wal-a'naba wa mingkullis-samarat* menjelaskan bahwa Allah SWT mengeluarkan *tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan* dari bumi dengan air yang hanya satu macam dan buah-buahan itu keluar dengan perbedaan macamnya, rasanya, warnanya, baunya dan bentuknya. Dan untuk itu Allah SWT berfirman *inna fii zalika la ayatal liqaumiyyatafakkarun* yang menjelaskan bahwa adanya semua itu adalah sebagai dalil dan bukti bahwasanya tidak ada Ilah (yang berhak diibadahi dengan sebenarnya) kecuali Allah SWT (Katsir, 2003). Salah satu tanaman yang telah Allah SWT sediakan bagi manusia sebagai bukti kebesaran-Nya adalah tumbuhan Katuk. Bukti kebesaran Allah SWT tersebut selalu berupa sesuatu dengan penciptaan yang sebaik-baiknya. Tumbuhan yang

Allah SWT sediakan bagi manusia pun diciptakan dengan penciptaan yang terbaik. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT Q.S. Asy Syu'ara ayat 7.

أَوَمَيَّرُوا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧) [الشعراء: ٧]

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

Kata *zauj* berarti *pasangan* pasangan yang dimaksud ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Ada tumbuhan yang memiliki benang sari dan putik sehingga menyatu dalam diri pasangannya dan dalam penyerbukannya ia tidak membutuhkan pejantan dari bunga lain, dan ada juga yang hanya memiliki salah satunya saja sehingga membutuhkan pasangannya. Yang jelas, setiap tumbuhan memiliki pasangannya dan itu dapat terlihat kapan saja, bagi siapa yang ingin menggunakan matanya. Karena itu ayat diatas memulai dengan pertanyaan *apakah mereka tidak melihat*, pertanyaan yang mengandung unsur keheranan terhadap mereka yang tidak memfungsikan matanya untuk melihat bukti yang sangat jelas itu. Kata *kariim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disipatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Tumbuhan Katuk merupakan salah satu tumbuhan yang disediakan oleh Allah SWT dalam bentuk yang baik. Hal ini dibuktikan dengan penggunaan tumbuhan Katuk sebagai sayuran dan tanaman obat. Sebagai tanaman obat, Katuk

dimanfaatkan masyarakat untuk menyembuhkan suatu penyakit tertentu. Hal ini sesuai dengan Firman Allah SWT Q.S. Asy Syu'ara ayat 80.

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ (٨٠) [الشعراء: ٨٠]

Artinya : “Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku” (Q.S. Asy Syu'ara : 80).

Firman-Nya *wa idza maridhtu dan apabila aku sakit*, berbeda dengan redaksi lainnya. Perbedaan pertama adalah penggunaan kata *idza apabila* dan mengandung makna besarnya kemungkinan atau bahkan kepastian terjadinya apa yang dibicarakan, dalam hal ini adalah sakit. Ini mengisyaratkan bahwa sakit berat atau ringan, fisik atau mental merupakan salah satu keniscayaan hidup manusia. Perbedaan kedua adalah redaksinya yang menyatakan “Apabila aku sakit” bukan “Apabila Allah menjadikan aku sakit”. Namun demikian, dalam hal penyembuhan seperti juga dalam pemberian hidayah, makan dan minum secara tegas beliau menyatakan bahwa Yang melakukannya adalah Dia, Tuhan semesta alam (Shihab, 2002). Dan salah satu upaya Allah SWT menyembuhkan penyakit yang diderita oleh makhluk-Nya adalah dengan menyediakan tanaman obat, salah satunya adalah tumbuhan Katuk. Tumbuhan Katuk diketahui memiliki aktivitas farmakologis sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan sebagainya. Daun Katuk juga terkenal sebagai pelancar ASI, diduga salah satu penyebab tidak lancarnya ASI adalah banyaknya radikal bebas dalam tubuh. Sehingga, aktivitas antioksidan daun Katuk dapat dimanfaatkan dalam hal ini. Namun, informasi mengenai senyawa aktif tumbuhan Katuk yang menyebabkan aktivitas farmakologis yang beragam tersebut perlu untuk dilakukan penelitian lebih lanjut.

2.2 Tumbuhan Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)

2.2.1 Deskripsi dan Morfologi Umum Tumbuhan Katuk

Menurut Aspan (2008) klasifikasi tumbuhan Katuk adalah sebagai berikut:

| | |
|------------|--------------------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Spermatophyta |
| Sub divisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledoneae |
| Bangsa | : Euphorbiales |
| Suku | : Euphorbiaceae |
| Marga | : Sauropus |
| Spesies | : <i>Sauropus androgynus</i> L. Merr |



Gambar 2.1 Tanaman Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)

Sauropus androgynus L. Merr atau Katuk adalah semak famili *Euphorbiaceae* yang biasa tumbuh di daerah tropis yang hangat, lembab dan biasa digunakan sebagai sayuran (Cikita, dkk., 2016). Tanaman Katuk tersebar di India, Sri Lanka, Thailand, Laos, Malaysia, Indonesia dan mayoritas negara di Asia Tenggara (Firdausi, 2015). Tanaman Katuk dalam beberapa bahasa dikenal sebagai mani cai (bahasa Cina), cekur manis (bahasa Melayu), phakwan (Thailand), ngub (Kamboja), binahian (Filipina/Tagalog) dan rau ngot (bahasa Vietnam). Sedangkan di Indonesia, nama tanaman Katuk adalah sinami (Minangkabau), cekop manis (Melayu), Katuk (Sunda, Bengkulu), babing, Katukan, Katu (Jawa), kayu manis (Bali) dan Karekur (Madura) (Aspan, 2008).

Tumbuhan Katuk merupakan tumbuhan perdu dengan tinggi 2,5–5 meter dengan batang berkayu dan berbentuk bulat. Batang tumbuhan Katuk berwarna hijau ketika masih muda dan berwarna coklat kehijauan setelah tua. Batang tanaman Katuk muda berupa batang tidak berkayu yang akan mengeras seiring berjalannya waktu. Hal ini menyebabkan tumbuhan Katuk termasuk dalam suku *Euphorbiaceae*. Daun tumbuhan Katuk berbentuk lonjong sampai bundar yang tersusun selang seling pada satu tangkai dengan jumlah daun per tangkai 11-21 helai (Santoso, 2014). Tepi daun rata dengan panjang daun 1,5 – 6 cm dan lebar daun 1–3,5 cm. Daun tumbuhan Katuk mempunyai pertulangan menyirip, bertangkai pendek, berwarna hijau keputihan pada bagian atas dan hijau terang pada bagian bawah (Aspan, 2008).

2.2.2 Kandungan dan Manfaat Senyawa Aktif Tumbuhan Katuk

Tumbuhan Katuk banyak dikenal sebagai sayuran di mayoritas wilayah Indonesia, dimana Jawa merupakan salah satu wilayah Indonesia yang telah banyak membudidayakan tanaman Katuk secara komersial. Tumbuhan Katuk merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan nutrisi tinggi, dimana kandungan nutrisi daun Katuk tua lebih tinggi dari daun Katuk muda. Kandungan nutrisi tumbuhan Katuk ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi tumbuhan Katuk (Nahak & Sahu, 2010)

| Kandungan Nutrisi | % Nilai Nutrisi |
|-------------------|-----------------|
| Air | 82,45 |
| Protein | 5,24 |
| Lemak | 0,13 |
| Karbohidrat | 4,86 |
| Asam Askorbat | 85,65 |

Daun tumbuhan Katuk merupakan salah satu bagian yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Kandungan kimia daun Katuk memiliki aktivitas farmakologis sebagai antioksidan (Zuhra, dkk., 2008; Arista, 2013, Nurdianti & Tuslinah, 2017), antiinflamasi (Lee, et al., 2011; Madhu, dkk., 2014; Desnita, dkk., 2018), antibakteri (Winarsih, dkk., 2015; Anggraeni, 2016; Mulyani, dkk., 2017; Wahyuni, dkk., 2017), Antistress (Hegde & Divya, 2015), antiobesitas (Patonah, dkk., 2017), meningkatkan produksi ASI (Suwanti & Kuswati, 2016; Setiawandari & Istiqomah, 2017; Juliastuti, 2019), meningkatkan kerja sistem imun (imunostimulan) (Rauf & Anas, 2016), bahan pengawet alami daging ayam (Hardianto & Hidayanti, 2017) dan suplemen pakan unggas (Santoso, 2018).

Aktivitas farmakologis yang dimiliki oleh tumbuhan Katuk disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Zuhra, dkk. (2008) mengemukakan bahwa ekstrak metanol daun Katuk menunjukkan adanya senyawa flavonoida jenis flavanon yang memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang maksimum 292 nm. Hasil penelitian Sanjayasari dan Piliang (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun Katuk memberikan hasil positif pada pengujian alkaloid, tanin, saponin, flavonoid dan steroid. Nurdianti dan Tuslinah (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun Katuk yang menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, steroid, kuinon, monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Senyawa metabolit sekunder tersebut mampu memberikan aktivitas farmakologis yang beragam, salah satunya adalah aktivitas antioksidan. Beberapa penelitian tentang aktivitas antioksidan daun Katuk ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Penelitian aktivitas antioksidan daun Katuk

| Pelarut | Deskripsi | Referensi |
|---|---|------------------------------------|
| Metanol | Hasil ekstraksi maserasi daun Katuk menghasilkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 80,81 ppm | Zuhra, dkk., 2008 |
| Air, etanol dan metanol | Ekstrak etanol daun Katuk hasil ekstraksi soxhlet menghasilkan % aktivitas antioksidan 62,90% dengan IC_{50} 0,016 mg/mL, ekstrak metanol menghasilkan % aktivitas antioksidan 53,67% dengan IC_{50} 0,014 mg/mL dan ekstrak air menghasilkan % aktivitas antioksidan 48,48% | Nahak & Sahu, 2010 |
| Metanol 70% | Ekstrak daun Katuk menghasilkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 8,0 ppt | Wei, dkk., 2011 |
| Metanol 100% | Hasil ekstraksi maserasi daun Katuk menghasilkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} $86,74 \pm 2,92$ $\mu\text{g} / \text{mL}$ terhadap standar asam askorbat dengan nilai IC_{50} $4,15 \pm 0,50$ $\mu\text{g} / \text{mL}$ | Lee, dkk., 2011 |
| Air dan etanol | Ekstrak air daun Katuk menghasilkan % aktivitas antioksidan 70-90% dan % aktivitas antioksidan yang lemah pada ekstrak etanol daun Katuk | Narayanaswamy & Balakrishnan, 2011 |
| Air | Hasil ekstraksi maserasi daun Katuk menghasilkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 4,71 mg/mL | Rattanasena, 2012 |
| Etanol 80% dan 96% | Ekstrak etanol 80% hasil ekstraksi maserasi menghasilkan aktivitas antioksidan EC_{50} 813,09 ppm dan ekstrak etanol 96% EC_{50} 1024,27 ppm | Arista, 2013 |
| Petroleum benzena, kloroform, metanol dan air | Ekstrak petroleum benzena daun Katuk hasil ekstraksi maserasi menghasilkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 36,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ekstrak kloroform IC_{50} 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ekstrak metanol IC_{50} 145 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan ekstrak air IC_{50} 307,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | Murti, dkk., 2013 |
| Air | Ekstrak protein hasil dialisis daun Katuk menghasilkan aktivitas antioksidan 50% pada konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibandingkan standar kurkumin dengan aktivitas peredaman 56,61% pada konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | Madhu, dkk., 2014 |
| Etanol 96% | Hasil ekstraksi maserasi daun Katuk menghasilkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 32,04 ppm sedangkan formula terbaik krim ekstrak etanol daun Katuk menghasilkan nilai IC_{50} 55,85 ppm | Nurdianti & Tuslinah, 2017 |
| Metanol | Ekstrak daun Katuk hasil ekstraksi soxhlet menghasilkan nilai IC_{50} $250,55 \pm 0,49$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ | Laveena & Chandra, 2018 |
| Metanol | Ekstrak daun Katuk hasil ekstraksi maserasi metode pengeringan matahari langsung menghasilkan IC_{50} 25,46 mg/L, metode pengeringan dengan oven 60°C selama 16 jam IC_{50} 25,19 mg/L dan metode pengeringan matahari langsung 14 jam disertai oven 60°C selama 8 jam IC_{50} 15,77 mg/L | Wongklom & Moonsin, 2018 |

Selain dimanfaatkan dalam bidang pengobatan, tumbuhan Katuk juga dimanfaatkan sebagai pewarna alami warna hijau. Kualitas produk pewarna alami daun Katuk tidak mengalami perubahan karena Katuk tidak mengakibatkan sifat inderawi. Serbuk pewarna alami daun Katuk yang paling diminati adalah serbuk yang mengandung klorofil 0,83% dengan penambahan maltodekstrin 4%, kadar air 5,64% yang dikeringkan pada suhu 90°C selama 1,19 menit menghasilkan warna *Redness* 0,65, *Blueness* 2,75 dan *Yellowness* 8,9 (Hardjati, 2008).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Katuk

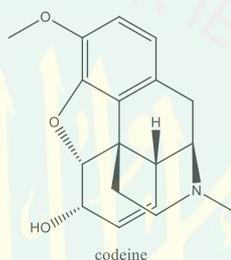
Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam suatu tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas serta dapat berfungsi sebagai pelindung dari gangguan hama penyakit atau lingkungan (Rohmaniyah, 2016). Secara umum daun Katuk mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid.

2.3.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan sebagian besar atom N ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Kristanti, dkk., 2008). Alkaloid merupakan kumpulan molekul nitrogen yang berasal dari asam amino seperti *lysine*, *ornothine*, *tyrosine*, *phenylalanine* dan *tryptophan* (Sanjayasari & Pliliang, 2011). Ciri khas bahan mengandung senyawa alkaloid adalah rasa sedikit pahit (Nakagawa, dkk., 2007).

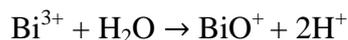
Sebagian besar senyawa alkaloid mempunyai kerangka dasar cincin polisiklik termasuk cincin heterosiklik nitrogen yang mengandung substituen tertentu. Pada umumnya, nitrogen berada pada gugus amin ($-NR_2$) atau gugus

amida (-CO-NR₂) dan tidak pernah dalam bentuk gugus nitro (NO₂) atau gugus diazo. Sedangkan substituen oksigen dapat ditemukan sebagai gugus fenol (-OH), metoksi (-OCH₃) atau gugus metilendioksi (-O-CH₂-O). Adanya substituen oksigen dan gugus N-metil merupakan ciri khas senyawa alkaloid (Lenny, 2006). Penetapan struktur alkaloid membutuhkan waktu lama karena kerumitan struktur dan kemudahan molekulnya mengalami reaksi penataan ulang (Kristanti, dkk., 2008). Struktur kimia senyawa alkaloid ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Contoh struktur alkaloid (Harborne, 1987)

Alkaloid dapat dipisahkan dari komponen tumbuhan berdasarkan sifat basanya (kation). Oleh karena itu, senyawa ini sering diisolasi dalam bentuk garamnya dengan HCl atau H₂SO₄. Alkaloid bebas atau garam hasil isolasi alkaloid seringkali ditemukan sebagai senyawa padat yang membentuk kristal tak berwarna (Kristanti, dkk., 2008). Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning yang diduga sebagai kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO⁺) (Marliana, dkk., 2005). Reaksi hidrolisis bismut ditunjukkan pada Gambar 2.3.

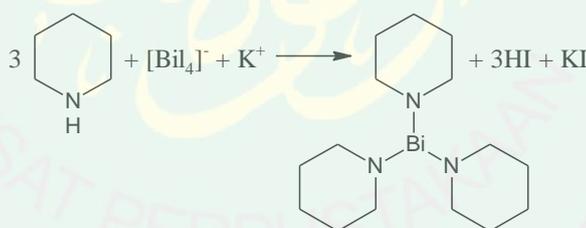


Gambar 2.3 Reaksi hidrolisis bismut (Marliana, dkk., 2005)

Penambahan asam bertujuan untuk menjaga ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, sehingga kesetimbangan bergeser ke arah kiri. Ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut (III) iodida yang kemudian larut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendarff, nitrogen pada alkaloid digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan K^+ (ion logam) (Marliana, dkk., 2005). Adapun reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 2.4.



(Dengan KI berlebih)

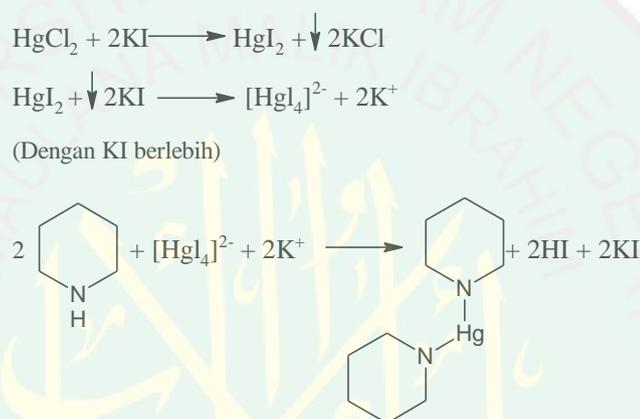


Kompleks logam dengan alkaloid (endapan jingga)

Gambar 2.4 Reaksi dugaan alkaloid dengan reagen Dragendorff (Rahmah, 2014)

Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih yang diduga sebagai kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuriem (II) klorida ditambah kalium iodida akan membentuk endapan merah merkuriem (II) iodida. Jika kalium iodida yang

ditambahkan berlebih akan membentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Alkaloid mengandung atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Pada uji alkaloid, nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi dugaan alkaloid dengan reagen Mayer ditunjukkan pada Gambar 2.5.



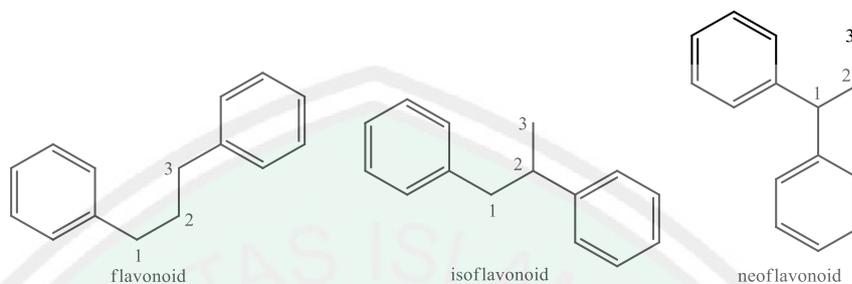
Kompleks logam dengan alkaloid (endapan putih kekuningan)

Gambar 2.5 Reaksi dugaan alkaloid dengan reagen Mayer (Rahmah, 2014).

2.3.2 Flavonoid

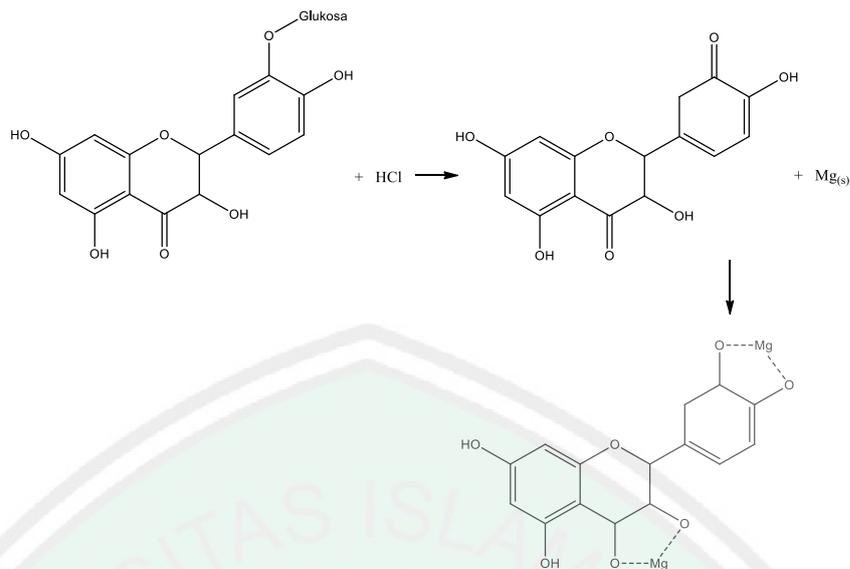
Flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar yang ditemukan dengan tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya (Kristanti, dkk., 2008). Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzena (C_6) yang terikat pada suatu rantai propana (C_3) membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan tersebut dapat menghasilkan tiga jenis struktur yaitu 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Kristanti, dkk., 2008). Pengelompokan senyawa

flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksilnya. Struktur senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Contoh struktur flavonoid (Kristanti, dkk., 2008)

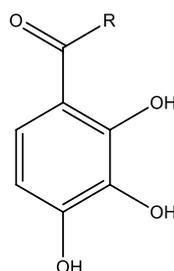
Kandungan senyawa flavonoid pada suatu sampel dapat diuji dengan metode Wilstater yaitu suatu metode pengujian flavonoid dengan cara menambahkan HCl pekat dan logam Mg. Menurut Septyaningsih (2010) ekstrak sampel yang positif mengandung senyawa flavonoid akan membentuk garam flavilium berwarna merah, kuning atau jingga setelah penambahan logam Mg dan HCl pekat. Reduksi antara Mg dan HCl pekat menghasilkan warna spesifik yang dapat menunjukkan jenis flavonoid yang ada pada suatu ekstrak sampel (Sanjayasari & Pliliang, 2011). Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid pada metode Wilstater dimaksudkan untuk menghidrolisis O-glikosil flavonoid menjadi aglikonnya. Glikosil akan tergantikan dengan H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa ditemui adalah glukosa, galaktosa, dan ramnosa (Nugrahani, dkk., 2016). Reduksi Mg dan HCl pekat menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Sakinah, 2017). Reaksi dugaan antara flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.7 Reaksi dugaan flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Nugrahani, dkk., 2016).

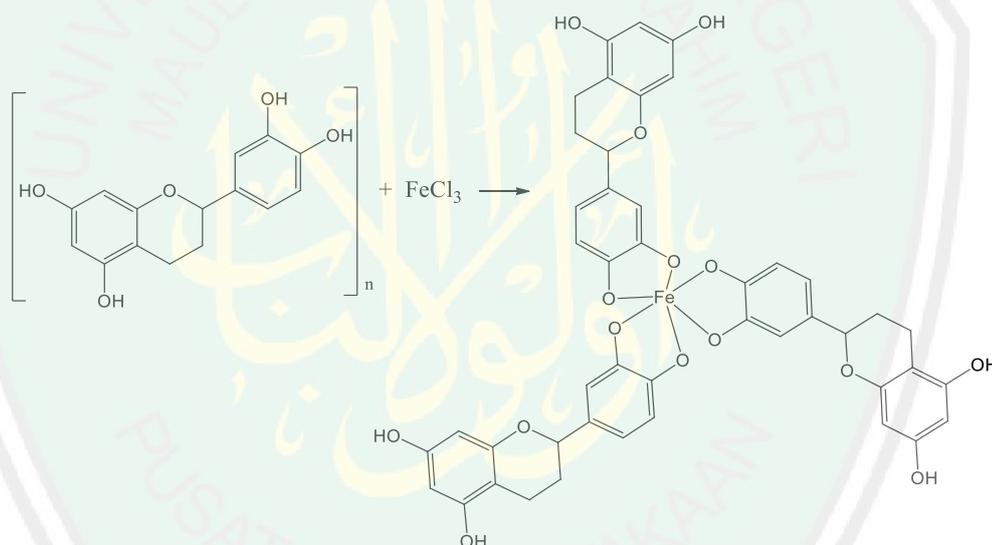
2.3.3 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat fenol, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Salah satu fungsi utama tanin adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat (Harborne, 1987). Pada umumnya, tanin merupakan campuran polifenol yang sukar dipisahkan karena tidak terdapat dalam bentuk kristal. Pada tumbuhan, senyawa tanin dapat ditemukan pada bagian kulit kayu, batang, daun dan buah (Fitriyani, 2009). Struktur senyawa tanin ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur kimia tanin (Harborne, 1987)

Sanjayasari dan Pliliang (2011) mengemukakan bahwa ekstrak sampel yang positif mengandung tanin akan berubah warna menjadi lebih pekat, coklat sampai hitam pekat ketika ditetesi dengan pereaksi FeCl_3 . Terjadinya perubahan warna dikarenakan pembentukan senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks tersebut terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam dengan atom nonlogam. Hal ini dikarenakan pereaksi FeCl_3 berfungsi sebagai pengikat kompleksitas tanin. (Harborne, 1987). Reaksi dugaan senyawa tanin dengan pereaksi FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 2.9.

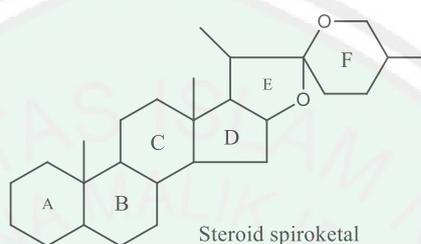


Gambar 2.9 Reaksi dugaan senyawa tanin dan FeCl_3 (Sa'adah, 2010)

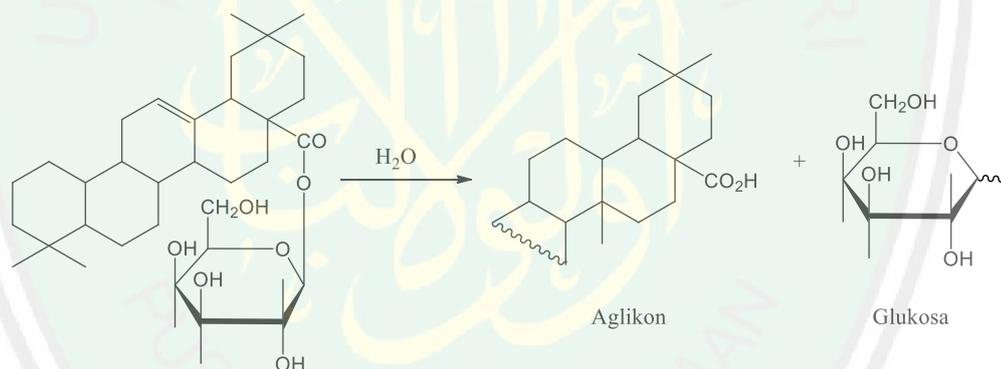
2.3.4 Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang secara alami dihasilkan oleh tanaman, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri (Sanjayasari & Pliliang, 2011). Saponin termasuk golongan senyawa terpenoid dan bagian dari triterpenoid (turunan hidrokarbon

C₃₀) (Harborne, 1987). Robinson (1995) menyatakan bahwa saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang dapat menghasilkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah. Struktur inti steroid spiroketal ditunjukkan pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Struktur inti steroid spiroketal (Robinson, 1995)



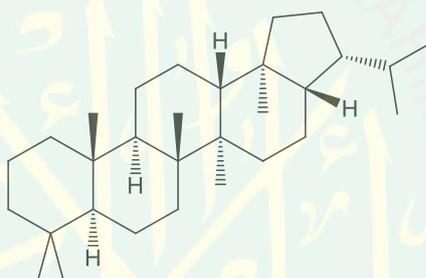
Gambar 2.11 Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Nugrahani, dkk., 2016)

Fitriyani, dkk. (2011) menyatakan bahwa pengujian saponin dalam ekstrak sampel dapat dilakukan dengan melarutkan 0,3 gram ekstrak sampel dalam 10 mL air suling dan dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Hasil positif adanya saponin ditunjukkan dengan adanya buih stabil selama 30 menit dengan tinggi 3 cm di atas permukaan cairan. Timbulnya buih pada pengujian senyawa saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih

dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Nugrahani, dkk., 2016). Reaksi dugaan pada uji saponin ditunjukkan pada Gambar 2.11.

2.3.5 Triterpenoid

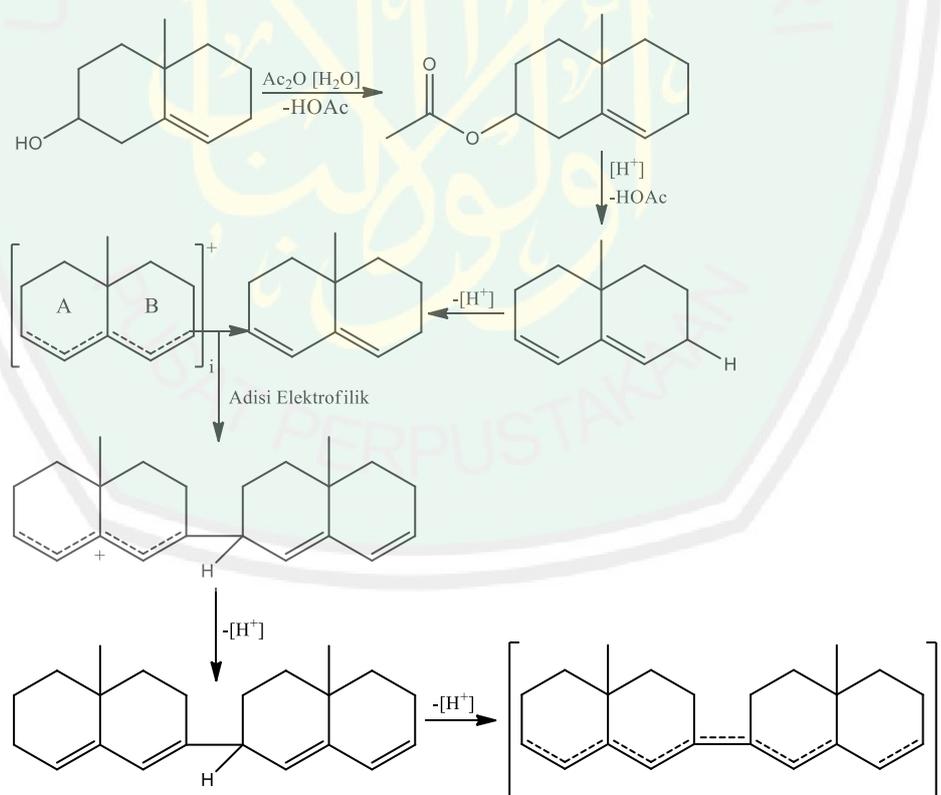
Triterpenoid merupakan senyawa dengan kerangka karbon yang tersusun dari 6 unit isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualen. Triterpenoid terdiri dari kerangka 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006). Struktur kimia triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Struktur kimia triterpenoid (Harborne, 1987)

Triterpenoid mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Senyawa triterpenoid tidak berwarna, kristalin, memiliki titik didih tinggi dan umumnya sulit dikarakterisasi karena secara kimia tidak reaktif (Sirait, 2007). Uji triterpenoid dapat dilakukan dengan reagen Libermann-Burchard yang membentuk warna merah, jingga, kuning, ungu, cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut (Lestari, 2011). Prinsip reaksi uji terpenoid dengan pereaksi Libermann-Burchard adalah kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation (Siadi, 2012).

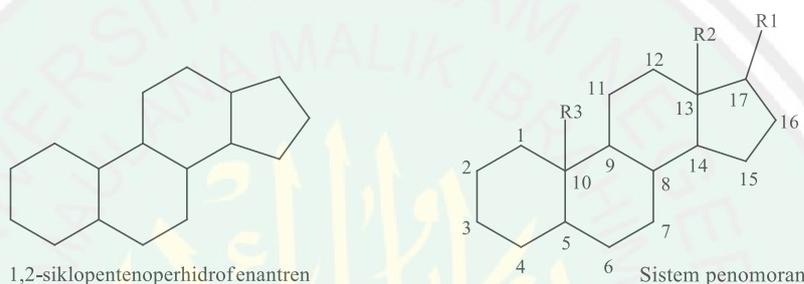
Reaksi antara senyawa terpenoid dan reagen Liebermann-Burchard diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil (gugus pergi yang baik) akan lepas dan terbentuk ikatan rangkap. Pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil dan karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen serta elektronnya lepas yang mengakibatkan perpanjangan konjugasi yang menyebabkan munculnya warna merah-ungu (Siadi, 2012). Reaksi dugaan senyawa terpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard ditunjukkan pada Gambar 2.13.



Gambar 2.13 Reaksi dugaan senyawa terpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard (Siadi, 2012).

2.3.6 Steroid

Steroid adalah senyawa bahan alam yang strukturnya terdiri atas 17 atom karbon yang dapat membentuk struktur dasar 1,2-siklopentenoperhidrofenantren (Kristanti, dkk., 2008). Struktur tersebut memiliki inti 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana (Poedjiadi & Supriyanti, 1994). Struktur dasar steroid ditunjukkan pada Gambar 2.14.

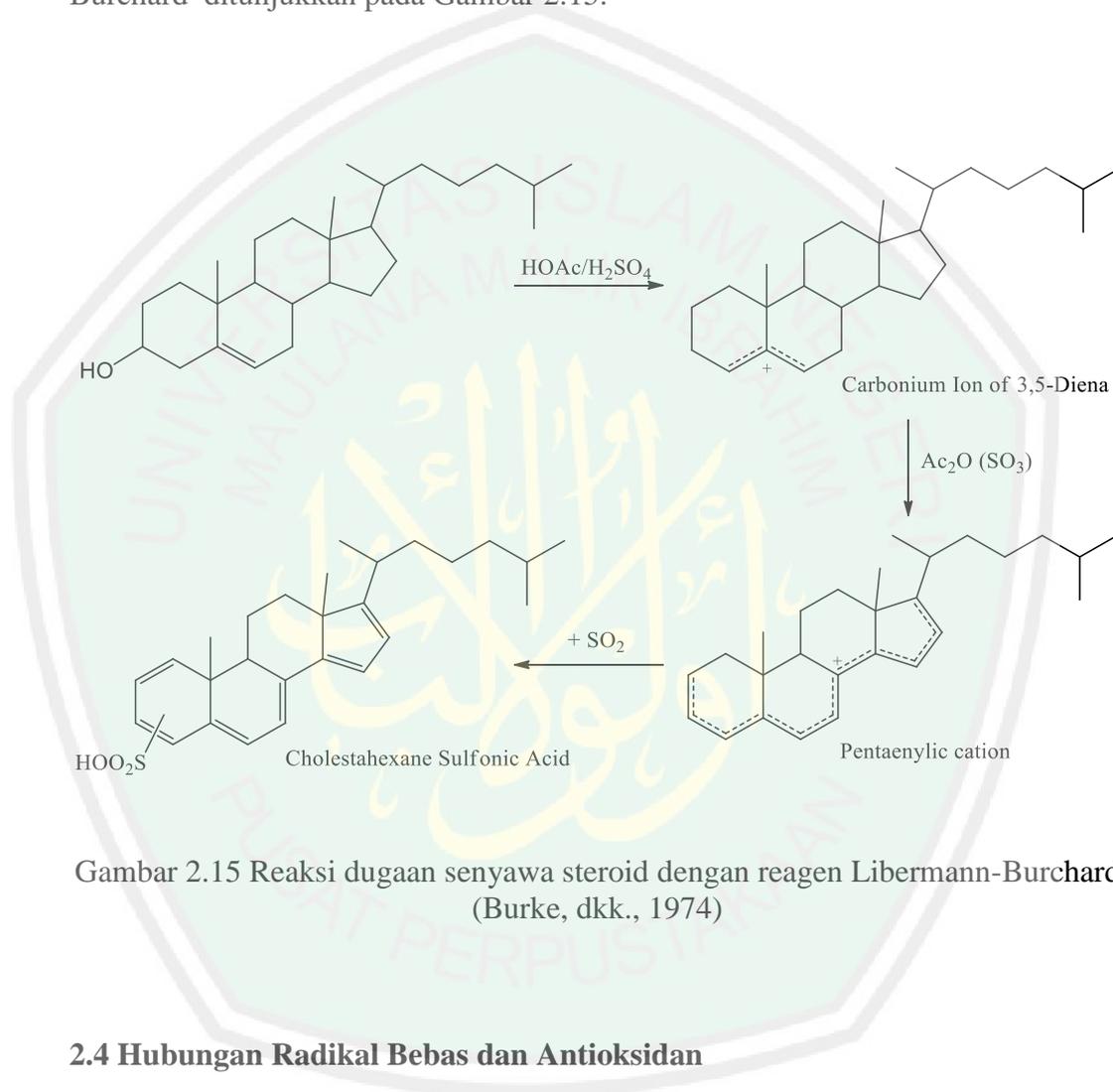


Gambar 2.14 Struktur dasar steroid dan sistem penomoran (Kristanti, dkk., 2008)

Steroid adalah turunan sterol yang merupakan senyawa sumber pembentuk hormon reproduksi (Sanjayasari & Pliliang, 2011). Steroid tersusun atas isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya nonpolar. Namun beberapa senyawaan steroid mengandung gugus $-OH$ atau disebut sterol, sehingga sifatnya cenderung lebih polar. Sterol tumbuhan yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan sering disebut *phytosterol* (fitosterol), sedangkan steroid yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol (Rohmaniyah, 2016).

Menurut Sanjayasari dan Pliliang (2011) ekstrak sampel yang positif mengandung steroid ditunjukkan dengan perubahan warna ekstrak menjadi kebiru-biruan setelah ditambahkan dietil ether, asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Reaksi yang terjadi antara steroid dengan asam asetat anhidrat adalah reaksi

asetilasi gugus $-OH$ pada steroid menghasilkan senyawa kompleks asetil steroid. Kemudian akan dilanjutkan dengan reaksi sulfonasi oleh H_2SO_4 . Reaksi tersebut mengakibatkan terjadinya perpanjangan konjugasi sehingga terjadi perubahan warna menjadi hijau. Reaksi dugaan senyawa steroid dengan reagen Libermann-Burchard ditunjukkan pada Gambar 2.15.



Gambar 2.15 Reaksi dugaan senyawa steroid dengan reagen Libermann-Burchard (Burke, dkk., 1974)

2.4 Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan

2.4.1 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) merupakan molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron tak berpasangan yang dapat menyerang dan mengikat elektron dari molekul lain untuk menstabilkan diri (Sakinah, 2017). Senyawa non radikal bertemu dengan senyawa radikal akan

membentuk senyawa radikal baru, sehingga senyawa reaktif dalam tubuh semakin meningkat (Sakinah, 2017). Radikal bebas adalah zat antara reaktif yang tak dapat diisolasi, berusia pendek dan berenergi tinggi (Fessenden & Fessenden, 1997).

Secara fisiologis, sel mampu memproduksi radikal bebas sebagai konsekuensi reaksi biokimia dalam tubuh. Radikal bebas dapat terbentuk melalui dua cara yaitu endogen dan eksogen. Secara endogen radikal bebas terbentuk sebagai respon normal peristiwa biokimia tubuh dalam sel (intrasel) maupun ekstrasel seperti metabolisme sel normal, proses peradangan, kekurangan nutrisi, autooksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transfer elektron di mitokondria dan oksidasi ion logam transisi (Iqbal, 2016). Sedangkan secara eksogen, radikal bebas didapat dari polutan lingkungan seperti timbal dari pembakaran mesin mobil, asap rokok, debu, ozon (Zuhra, dkk., 2008), pestisida, obat-obatan, pengawet serta radiasi ionisasi atau ultraviolet (Ambarwati, 2018).

Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, protein lain seperti enzim yang terdapat di dalam tubuh dan molekul yang tak teridentifikasi oleh sistem imun bahkan mutasi (Sakinah, 2017). Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein, DNA serta polisakaridanya. Reaksi oleh radikal bebas akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan menyebabkan kerusakan sel karena radikal bebas dapat merusak membran sel. Hal tersebut dapat berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arterosklerosis, kanker, penuaan dini (Kusumowati, dkk., 2012), penyakit autoimun, penyakit jantung koroner dan diabetes mellitus (Iqbal, 2016). Radikal bebas dalam jumlah sedikit dibutuhkan tubuh untuk membantu sel darah

putih dalam membunuh kuman. Tubuh manusia secara alami dapat menghasilkan antioksidan yang akan menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan. Tingginya radikal bebas menyebabkan antioksidan dalam tubuh menurun dan meningkatkan potensi kerusakan DNA dan timbulnya kanker (Sakinah, 2017).

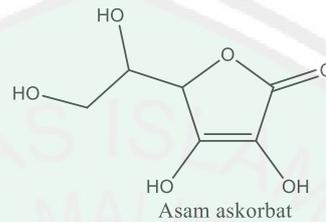
2.4.2 Antioksidan

Antioksidan adalah molekul dengan berat molekul kecil yang mampu menetralkan radikal bebas dengan cara menerima atau memberikan elektron untuk mengeliminasi kondisi tidak berpasangan dan menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007). Hal tersebut menyebabkan antioksidan menjadi radikal pada proses netralisasi, tetapi radikal antioksidan tidak seaktif radikal bebas. Radikal antioksidan dapat dinetralkan oleh antioksidan lain atau mekanisme lain yang dapat menghentikan radikal (Suriyawati, 2018). Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa fenol dengan gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi orto dan para terhadap gugus $-OH$ dan $-OR$ (Neldawati, dkk., 2013).

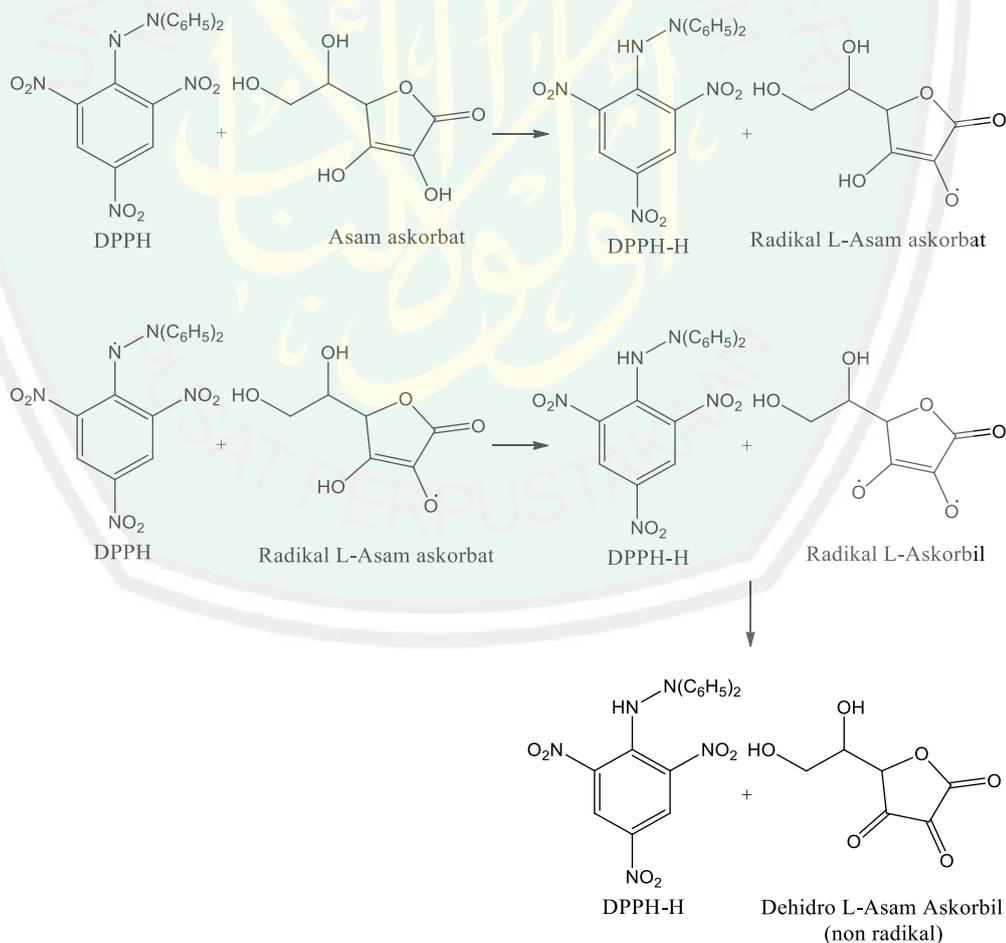
Secara umum, antioksidan dibedakan menjadi dua berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Mabruroh, 2015). Antioksidan alami merupakan antioksidan yang umumnya diisolasi dari sumber alami seperti tumbuh-tumbuhan, buah-buahan, rempah-rempah dan herbal (Mabruroh, 2015). Senyawa antioksidan alami diantaranya vitamin A, C, E, antosianin, isoflavon, selenium, karotenoid, dan senyawa fenolik khususnya flavonoid (Ulyah, 2019).

Vitamin C (L-asam askorbat) merupakan antioksidan alami yang larut dalam air sedikit larut dalam aseton atau alkohol dan sukar larut dalam kloroform, eter dan benzena. Vitamin C dapat menangkap radikal O_2^{\bullet} , OH^{\bullet} , ROO^{\bullet} , berperan

dalam proses regenerasi vitamin E, serta melindungi membran biologis dan LDL (*Low Density Lipid*) dari kerusakan prooksidatif dengan cara mengikat radikal peroksil dalam fase berair dari plasma atau sitosol (Mabruroh, 2015). Struktur senyawa asam askorbat atau vitamin C ditunjukkan pada Gambar 2.16.



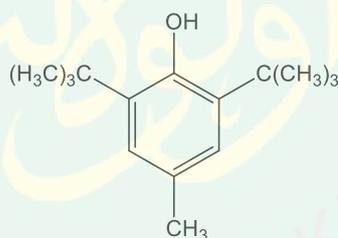
Gambar 2.16 Struktur Asam askorbat atau vitamin C (Mabruroh, 2015)



Gambar 2.17 Reaksi Asam askorbat dengan DPPH (Nishizawa, 2005)

Reaksi antara asam askorbat dan DPPH pada Gambar 2.17. menunjukkan bahwa pada uji aktivitas antioksidan, radikal DPPH akan bereaksi dengan asam askorbat menghasilkan DPPH netral dan radikal asam askorbat. Asam askorbat radikal akan kembali stabil ketika ikatan rangkap atom C mendonorkan elektron pada atom O radikal. Pada tahap akhir reaksi akan dihasilkan senyawa L-dehidroaskorbat (Prakash, 2001).

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh melalui sintesis kimia untuk tujuan komersial bahan nonpangan seperti karet dan bensin. Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya untuk makanan yaitu BHT (*Butilated Hidroxy Toluena*), BHA (*Butilated Hidroxy Anisol*) TNHQ (*Tert-Butil Hydroxy Quinon*), PG (*Propil gallate*) dan tokoferol. Struktur antioksidan sintetik BHT (*Butilated Hidroxy Toluena*) ditunjukkan pada Gambar 2.18.



Gambar 2.18 *Butilated Hidroxy Toluena* (BHT) (Cahyadi, 2006)

BHT dan BHA dapat digunakan untuk menghambat proses oksidasi pada minyak atau lemak (Cikita, dkk., 2016). Namun, penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena menimbulkan beberapa efek samping. Diantara efek samping dari penggunaan antioksidan sintetik adalah bersifat karsinogenik, meracuni hewan uji dan menimbulkan kerusakan hati jika digunakan dalam jangka waktu yang lama (Andarwulan, dkk., 1996).

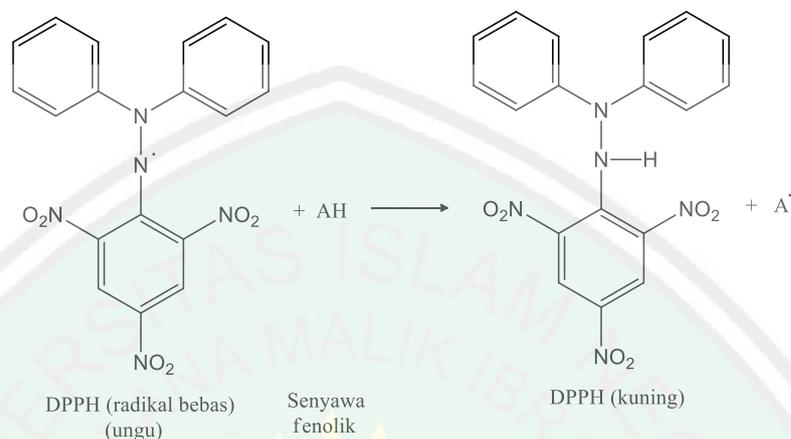
2.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas total antioksidan pada suatu sampel baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Metode DPPH mampu mengukur semua komponen antioksidan baik yang larut dalam air maupun dalam lemak (Prakash, 2001). Kelebihan dari metode ini adalah sederhana, mudah, cepat, peka, dan memerlukan sedikit sampel (Mabruroh, 2015). DPPH juga merupakan suatu radikal bebas yang stabil selama bertahun-tahun jika disimpan dalam keadaan kering dan kondisi penyimpanan yang baik (Molyneux, 2004).

Prinsip metode DPPH adalah larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan. DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Senyawa antioksidan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya perubahan warna yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, dkk., 2005). Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen dari sampel. Hal ini mengindikasikan adanya peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Mabruroh, 2015).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri menyatakan bahwa senyawa DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan antioksidan akan terbaca sebagai nilai absorbansi dalam metanol berwarna ungu tua yang terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar

515 nm-517 nm (Mabruroh, 2015). Reaksi dugaan antara DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.19.



Gambar 2.19 Reaksi dugaan DPPH dengan antioksidan (Hutabalian, dkk., 2018)

Absorbansi kontrol yang digunakan dalam metode DPPH merupakan absorbansi DPPH sebelum dilakukan penambahan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran dan menjaga kekonstanan konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2004). Nilai absorbansi dapat berkurang dari hari ke hari karena adanya penurunan aktivitas ketika dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran (Sakinah, 2017).

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai 0% menunjukkan bahwa sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% menunjukkan bahwa pengujian aktivitas antioksidan perlu melalui tahap pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan apabila persentase aktivitas antioksidannya lebih atau sama

dengan 50% (Parwata, dkk., 2009). Pengukuran aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan Persamaan 2.1.

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots\dots(2.1)$$

Interpretasi hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat diketahui dengan nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu sampel. Ketentuan aktivitas antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Ketentuan aktivitas antioksidan (Nurdianti & Tuslinah, 2017)

| Nilai IC_{50} (ppm) | Kategori |
|-----------------------|--------------|
| <50 | Sangat kuat |
| 50-100 | Kuat |
| 100-150 | Sedang |
| 150-200 | Lemah |
| >200 | Sangat Lemah |

Maesaroh, dkk (2018) telah melakukan penelitian perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode DPPH lebih efektif dibanding FRAP dan FIC dengan nilai IC_{50} 1,27; 2,44 dan 2,77 mg/L untuk asam galat, kuersetin dan asam askorbat. Korelasi ketiga metode uji aktivitas antioksidan untuk semua standar antioksidan terbukti sangat tinggi ($R > 0,98$) khususnya antara DPPH dan FRAP. Hal ini membuktikan adanya keterkaitan antara daya hambat radikal bebas dengan potensial reduksi senyawa polihidroksi (polifenol) terhadap ion besi.

2.5 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Daun Katuk

2.5.1 Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi ultrasonik atau *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) merupakan metode ekstraksi maserasi yang dikembangkan dengan bantuan gelombang ultrasonik yang merupakan gelombang suara berfrekuensi tinggi diatas pendengaran manusia (20 kHz-500 MHz) (Sholihah, dkk., 2017). Prinsip dasar ekstraksi ultrasonik adalah perambatan gelombang ultrasonik melalui suatu medium, dimana medium yang dilewati akan mengalami getaran. Getaran yang terjadi akan menimbulkan suatu gelembung (efek kavitasi) yang dapat memecah dinding sel tumbuhan, sehingga senyawa pada tumbuhan dapat terekstrak lebih banyak karena ekstraksi terjadi secara intensif (Thompson & Doraiswamy, 1999).

Kelebihan ekstraksi ultrasonik adalah proses ekstraksi cepat dengan kualitas tinggi, jumlah pelarut sedikit, sederhana, kemurnian tinggi, mengurangi produksi air limbah dan memerlukan energi kecil (Chemat, dkk., 2017). Dai, dkk, (2015) mengemukakan bahwa ekstraksi tanaman *Dipsacus asperoides* dengan 3 metode ekstraksi yaitu soxhlet, maserasi dan ultrasonik menghasilkan nilai alkaloid total 0,520; 0,286 dan 0,590 mg/g dengan lama ekstraksi 6, 48 dan 1 jam. Hal ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik lebih efisien dengan menghasilkan alkaloid total yang optimal dengan waktu ekstraksi yang singkat.

Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi ultrasonik yaitu lama ekstraksi, rasio bahan dan pelarut, suhu dan pemilihan pelarut. Faktor-faktor tersebut akan mempengaruhi terhadap nilai rendemen yang dihasilkan. Beberapa penelitian yang dapat menjadi kajian literatur faktor yang mempengaruhi ekstraksi ultrasonik ditunjukkan pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Penelitian penggunaan ekstraksi ultrasonik pada berbagai sampel

| Sampel | Pelarut | Deskripsi | Referensi |
|--------------|-----------------------------------|--|-----------------------|
| Kayu Manis | Metanol, etanol dan isopropil | Pelarut metanol menghasilkan rendemen sebesar 22,86%, etanol sebesar 17,87% dan isopropil alkohol 14,64% | Jos, dkk., 2011 |
| Alga Merah | Metanol | Variasi lama ekstraksi 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 menit. Hasil terbaik terdapat pada lama ekstraksi 10 menit dengan total fenol sebesar 556,42 mg/L | Sari, dkk., 2012 |
| Daun Berenuk | Etanol | Variasi rasio bahan : pelarut (1:9, 1:10 dan 1:11) dan lama ekstraksi 10, 20 dan 30 menit. Hasil terbaik pada rasio bahan:pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit menghasilkan rendemen 26,24% | Ardianti & Joni, 2014 |
| Sirih merah | Etanol, etil asetat dan n-heksana | Variasi lama ekstraksi 5, 10, 15 dan 20 menit. Hasil terbaik pada pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi 20 menit dengan nilai IC_{50} 6,95% | Hendryani, dkk., 2015 |
| Daun sirsak | Etanol | Variasi rasio bahan : pelarut (1:5, 1:10 dan 1:15) dan lama ekstraksi 10, 15 dan 20 menit. Hasil terbaik pada rasio bahan:pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit dengan rendemen 11,72% | Handayani, dkk., 2016 |
| Bawang dayak | Etanol dan n-heksana | Variasi lama ekstraksi 10, 20 dan 30 menit. Hasil terbaik terdapat pada pelarut etanol dengan lama ekstraksi 30 menit dengan rendemen 7,84% | Yuswi, 2017 |
| Daun petai | Etanol 96% | Variasi suhu 40, 50, 60 dan 70°C, lama ekstraksi 10, 30 dan 50 dan rasio bahan : pelarut (1:10, 1:13 dan 1:15). Hasil terbaik pada rasio bahan : pelarut (1:13) suhu 60°C dan lama ekstraksi 30 menit dengan rendemen 15,53% dan IC_{50} 52,55 ppm | Buanasari, dkk., 2017 |

Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi suatu senyawa. Ekstraksi dapat dilakukan secara bertahap dari pelarut non polar (kloroform atau n-heksana), pelarut semipolar (etil asetat atau dietil eter) dan pelarut polar (metanol atau etanol) (Winarno, dkk., 1973). Ekstraksi senyawa aktif dari suatu tanaman dengan berbagai jenis pelarut pada

tingkat kepolaran yang berbeda bertujuan untuk memperoleh hasil yang optimum pada jumlah ekstrak dan jenis senyawa aktif dalam ekstrak (Harborne, 1987). Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan semakin polar (Sudarmadji, dkk., 2003). Polaritas beberapa beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut (Sax & Lewis, 1998; Fessenden & Fessenden, 1997; Mulyono, 2012)

| Jenis pelarut | Konstanta dielektrikum | Tingkat kelarutan dalam air | Titik didih (°C) |
|----------------|------------------------|-----------------------------|------------------|
| Heksana | 1,9 | TL | 68,7 |
| Petroleum eter | 2,28 | TL | 60 |
| Benzene | 2,38 | TL | 80,1 |
| Toluene | 4,81 | TL | 111 |
| Kloroform | 4,81 | S | 61,3 |
| Etil asetat | 6,02 | S | 77,1 |
| Metil asetat | 6,68 | S | 57 |
| Metil klorida | 9,08 | S | 39,75 |
| Butanol | 15,80 | S | 117,2 |
| Propanol | 20,1 | L | 97,22 |
| Aseton | 20,70 | L | 56,2 |
| Etanol | 24,30 | L | 78,5 |
| Metanol | 33,60 | L | 64 |
| Air | 78,4 | L | 100 |

Keterangan : TL = tidak larut; S= sedikit; L= larut dalam berbagai proporsi

Berdasarkan uraian diatas, maka pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter dengan rasio bahan : pelarut adalah 1:10 lama ekstraksi 20 menit dengan frekuensi 42 KHz pada suhu kamar.

2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan kimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua

fase yaitu fase gerak dan fase diam yang berbeda tingkat kepolarannya. Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik seperti asam lemak dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991). Fasa gerak dapat berupa eluen atau gas pembawa yang bersifat inert, sedangkan fasa diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap, penyangga atau lapisan zat cair (Sastrohamidjojo, 1991).

Pemisahan senyawa dari ekstrak kasar dapat dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa silika gel (biasanya berupa plat silika gel F₂₅₄) dan aluminium oksida. Fasa diam mampu mengikat senyawa yang akan dipisahkan baik berupa senyawa netral, asam dan basa (Sastrohamidjojo, 1991). Fase diam silika gel bersifat asam, sedangkan fase diam alumina bersifat basa (Gritter, 1991). Pada umumnya, plat silika gel F₂₅₄ yang berfungsi sebagai fase diam mengandung indikator fluoresensi yang akan memancarkan sinar (lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆) pada bercak tak berwarna pada plat yang telah dielusi (Gritter, 1991). Adapun untuk senyawa yang tidak berfluoresensi, fase diam yang digunakan dapat ditambahkan indikator fluoresensi. Bercak yang dihasilkan akan berwarna gelap dengan penggunaan pereaksi semprot yang terkadang memerlukan pemanasan untuk memunculkan bercak (Stahl, 1985). Bercak kemudian diidentifikasi dengan sinar tampak atau lampu ultraviolet. Sedangkan fase gerak dapat berupa berbagai macam pelarut atau campuran pelarut yang disesuaikan dengan tingkat kepolaran senyawa yang akan dipisahkan (Hendayana, 2006). Fase gerak atau larutan pengembang dapat berupa pelarut organik atau campuran pelarut organik-anorganik (Gritter, 1991).

Identifikasi senyawa pada kromatografi lapis tipis dapat diketahui melalui harga R_f (*Retardation Factor*) yang menunjukkan jarak tempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan. Kepolaran suatu molekul ditentukan oleh struktur suatu senyawa, perbedaan struktur tersebut menyebabkan nilai R_f yang berbeda. Senyawa polar akan lebih terdistribusi pada fase diam (polar) dibandingkan pada fase geraknya. Hal ini menyebabkan nilai R_f kecil dan sebaliknya (Effendy, 2010). Harga R_f suatu komponen dapat ditentukan melalui Persamaan 2.2.

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa}}{\text{Jarak tempuh eluen}} \dots\dots\dots(2.2)$$

Kromatografi lapis tipis analitik (KLTA) dapat digunakan untuk menentukan eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam memisahkan senyawa metabolit sekunder. KLTA juga dapat membantu untuk mengetahui jumlah noda yang terpisah ketika suatu sampel dipisahkan menggunakan eluen terbaik (Harborne, 1987; Hayati, dkk., 2010). Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa target dengan munculnya noda tidak berekor dan jarak antar noda yang muncul sangat jelas. Pemisahan senyawa dikatakan baik apabila proses elusi senyawa menghasilkan noda yang banyak, noda yang terbentuk bulat, tak berekor dan pemisahan noda jelas (Day & Underwood, 1986).

Rusdi, dkk. (2018) telah melakukan penelitian tentang aktivitas afrodisiaka fraksi dari ekstrak etanol 70% daun Katuk serta pemeriksaan kandungan kimia daun Katuk menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yang ditandai dengan timbulnya bercak berwarna ungu

di bawah sinar UV 366 nm setelah diuapi amonia. Senyawa steroid terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi n-heksana yang ditandai dengan timbulnya bercak berwarna ungu-biru. Sedangkan senyawa alkaloid terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ditandai dengan timbulnya bercak jingga-coklat.

2.6 Identifikasi Senyawa Metabolit dengan Spektrofotometer FT-IR

Spektroskopi inframerah merupakan metode analisis instrumentasi senyawa kimia menggunakan radiasi sinar inframerah (Day & Underwood, 1986). Prinsip kerja spektroskopi inframerah adalah adanya interaksi senyawa dalam sampel dengan energi yang diberikan pada panjang gelombang yang lebih panjang dibandingkan energi ultraviolet. Hal ini menunjukkan bahwa energi yang dikenakan pada sampel lebih lemah dibanding energi sumber sinar spektroskopi UV-Vis. Energi yang relatif kecil ini mampu menggetarkan atom-atom yang mempunyai elektron ikatan, namun energi tersebut terlalu lemah untuk membuat elektron tersebut tereksitasi (Wonorahardjo, 2013).

Sinar inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik sehingga sejumlah frekuensi akan diserap sedangkan frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Frekuensi yang terserap akan muncul sebagai penurunan signal yang terdeteksi. Informasi tersebut ditampilkan sebagai spektrum radiasi antara % transmittan dan bilangan gelombang (Khopkar, 2014). Fungsi utama dari spektroskopi inframerah adalah mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa organik berdasarkan spektrum khas pada daerah inframerah. Vibrasi gugus fungsi suatu senyawa dapat terjadi pada bilangan gelombang 2,5-15 μm ($4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$) yang merupakan bilangan gelombang spektrofotometer inframerah. Ikatan yang berbeda menghasilkan vibrasi yang berbeda sehingga

senyawa tertentu akan memiliki karakteristik frekuensi vibrasi sebagai pita serapan berbeda dengan senyawa lainnya. Adapun beberapa gugus fungsi serapan spektrofotometer inframerah ditunjukkan pada Tabel 2.6.

Tabel 2.6 Serapan gugus fungsi pada spektrofotometer inframerah
(Sastrohamidjojo, 1992)

| No. | Gugus Fungsi | Frekuensi (cm ⁻¹) | Panjang Gelombang (μm) | |
|-----|-----------------|-------------------------------|------------------------|-----------|
| 1 | OH | Alkohol | 3580-3650 | 2,74-2,79 |
| | | Berikatan H | 3210-3550 | 2,82-3,12 |
| | | Asam | 200-2700 | 3,70-4,00 |
| 2 | NH | Amina | 3300-3700 | 2,70-3,03 |
| 3 | CH | Alkana | 2850-2960 | 3,37-3,50 |
| | | Alkena | 3010-3095 | 3,23-3,32 |
| | | Alkuna | 3300 | 3,03 |
| | | Aromatik | ~3030 | ~3,30 |
| 4 | C≡C | Alkuna | 2140-2260 | 4,42-4,76 |
| 5 | C=C | Alkena | 1620-1680 | 5,95-5,81 |
| | | Aromatik | ~1600 | ~6,25 |
| 6 | C=O | Aldehida | 1720-1740 | 5,75-5,81 |
| | | Keton | 1675-1725 | 5,79-5,97 |
| | | Asam | 1700-1725 | 5,79-5,87 |
| | | Ester | 1720-1750 | 5,71-5,86 |
| 7 | C≡N | Nitril | 2000-2300 | 4,35-5,00 |
| 8 | NO ₂ | Nitro | 1500-1650 | 6,06-6,67 |

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dapat menghasilkan karakteristik yang berbeda-beda. Spektrum khas alkaloid menghasilkan serapan gugus fungsi N-H primer pada panjang gelombang 3549 dan 3464 cm⁻¹, C-H alifatik asimetris pada panjang gelombang 2980 cm⁻¹, NH *bending* pada panjang gelombang 1597 cm⁻¹, C-N pada panjang gelombang 1373 cm⁻¹, C=C aromatik pada panjang gelombang 1610 cm⁻¹ dan NH OOP pada panjang gelombang dekat 800 cm⁻¹ (Astuningsih, dkk., 2012; Titis, dkk., 2013).

Spektrum khas flavonoid menghasilkan serapan gugus fungsi C-H sp² pada bilangan gelombang >3000 cm⁻¹, serapan C=C aromatik pada panjang gelombang 1600 dan 1475 cm⁻¹, C-O pada bilangan gelombang 1260-1000 cm⁻¹,

C=O karbonil pada panjang gelombang 1850-1650 cm^{-1} (Silverstein, dkk., 1991; Nugrahaningtyas, dkk., 2005; Sari & Titik, 2006; Jing, dkk., 2009; Wang, dkk., 2012; Maulana, dkk., 2016).

Spektrum khas tanin menghasilkan serapan gugus fungsi O-H alkohol pada panjang gelombang 3482 cm^{-1} , C-H metilen *stretching* pada panjang gelombang 2926 dan 2859 cm^{-1} , C=C alkena diluar cincin aromatis pada panjang gelombang 1735 cm^{-1} , C=C alkena pada cincin aromatis pada panjang gelombang 1649 cm^{-1} , $-\text{CH}_3$ *bending* pada panjang gelombang 1458 cm^{-1} dan $-\text{CH}_3$ *stretching* pada panjang gelombang 1384 cm^{-1} (Istiqomah, dkk., 2015).

Spektrum khas triterpenoid menghasilkan serapan gugus fungsi $-\text{OH}$ terikat pada panjang gelombang 3425 cm^{-1} , C-O alkohol pada bilangan gelombang 1242 cm^{-1} , $-\text{CH}$ alifatik *stretching* pada bilangan gelombang 2924 dan 2854 cm^{-1} , C=O dari asam karboksilat pada bilangan gelombang 1728 cm^{-1} (Lambert, dkk., 1976; Rita, 2010), $-\text{C}=\text{C}$ alifatik *stretching* pada bilangan gelombang 1620 cm^{-1} , $-\text{CH}_2$ pada bilangan gelombang 1450 dan 1381 cm^{-1} dan $-\text{CH}_3$ *bending* (Silverstein, dkk., 1976; Sastrohamidjojo, 1991; Rita, 2010).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai September 2020 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat gelas, bola hisap, blender, neraca analitik, cawan porselen, spatula, oven, desikator, ekstraksi ultrasonik, corong *buchner*, *rotary evaporator*, plat silika gel $G_{60}F_{254}$, *great chamber*, pipa kapiler, lampu UV, sentrifugasi, dan untuk identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan instrumen FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Katuk dari Kota Malang Jawa Timur, kertas saring, akuades, air, etanol, metanol, etil asetat, petroleum eter, gas N_2 , vitamin C, HCl pekat, DPPH, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 pekat, kloroform, KBr, metanol 50%, logam Mg, reagen Mayer, $FeCl_3$ 1%, reagen Dragendroff dan Lieberman-Burchard.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air secara Termogravimetri
3. Ekstraksi ultrasonik daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)
4. Uji aktivitas antioksidan senyawa aktif menggunakan metode DPPH

5. Uji fitokimia senyawa aktif *Sauropus androgynus* L. Merr
6. Identifikasi senyawa aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)
7. Identifikasi menggunakan spektrofotometer FT-IR
8. Analisa data

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Preparasi Sampel (Rashati & Eryani, 2019)

Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) segar diambil dibersihkan dari kotoran yang menempel dan ditimbang, kemudian dicuci dengan air sampai bersih. Daun Katuk yang telah bersih di keringkan di udara terbuka dengan cara diangin-anginkan. Daun Katuk yang telah kering dihaluskan di Mortaria Medika Batu dan diayak dengan ukuran ± 90 mesh kemudian ditimbang.

3.4.2 Analisis Kadar Air secara Thermogravimetri (AOAC, 2006)

Cawan porselen dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam untuk menghilangkan kadar airnya. Cawan porselen disimpan dalam desikator selama 15 menit dibiarkan dingin kemudian ditimbang. Cawan tersebut dioven dan ditimbang kembali hingga beratnya konstan. Serbuk *Sauropus androgynus* L. Merr sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam cawan dan dipanaskan pada suhu $100-105^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam. Cawan dimasukkan dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang dan diulang perlakuan sampai berat konstan. Kadar air dalam serbuk daun *Sauropus androgynus* L. Merr dapat dihitung dengan Persamaan 3.1.

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan : (a) berat cawan kosong, (b) berat cawan + sampel sebelum dikeringkan, (c) berat cawan + sampel setelah dikeringkan.

3.4.3 Ekstraksi Ultrasonik *Sauropus androgynus* L. Merr (Rahmah, 2018)

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder daun Katuk dilakukan dengan cara ekstraksi ultrasonik menggunakan variasi pelarut air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter. Sebangak 20 gram serbuk daun Katuk ditambahkan masing-masing pelarut sebanyak 200 mL dengan perbandingan bahan : pelarut 1:10 (Handayani, dkk., 2016). Kemudian dilakukan ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 42 KHz pada suhu kamar selama 20 menit. Hasil ekstrak dari masing-masing pelarut disaring menggunakan corong *buchner* menghasilkan filtrat dan residu. Filtrat masing-masing pelarut ditampung pada erlenmeyer, kemudian dipisahkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan gas N₂. Ekstrak yang dihasilkan kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan Persamaan 3.2.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat dampel}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$$

3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH (Rohmaniyah, 2016)

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,2 mM 6 mL dimasukkan ke dalam kuvet, didiamkan ± 10 menit pada suhu 37°C, kemudian ditentukan λ_{max} larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dicatat λ_{max} hasil pengukuran yang didapat untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel (Suriyawati, 2018)

Absorbansi kontrol : Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 4,5 mL etanol 96%. Kemudian tabung reaksi

ditutup dengan tisu. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada λ_{\max} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

Sampel : Ekstrak daun Katuk pada masing-masing pelarut dilarutkan dalam etanol dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Dimasukkan 4,5 mL ekstrak masing-masing konsentrasi ke dalam tabung reaksi yang telah disediakan. Ditambahkan 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM (perbandingan larutan DPPH dengan ekstrak yang dilarutkan pada konsentrasi tertentu 1:3), perlakuan tersebut dilakukan secara triplo. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada λ_{\max} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

Data absorbansi yang diperoleh dari setiap konsentrasi ekstrak daun Katuk, dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dari persamaan 3.3 (Molyneux, 2004) :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} : \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidannya, masing-masing ekstrak dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi.

Pembanding : Asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan sama seperti sampel pada konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm, akan tetapi ekstrak daun Katuk diganti dengan asam askorbat (vitamin C).

3.4.5 Uji Fitokimia (Maulana, 2018)

Uji fitokimia dilakukan pada hasil ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk. Uji fitokimia senyawa aktif daun Katuk meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid. Ekstrak yang menunjukkan hasil positif pada uji fitokimia digunakan pada tahap pemisahan senyawa aktif menggunakan KLTA untuk mengidentifikasi senyawa aktifnya.

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak daun Katuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL HCl 2%, disaring dan dibagi dalam dua tabung reaksi. Tabung reaksi 1 ditambahkan 3 tetes reagen Dragendroff, sedangkan tabung reaksi II ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer. Jika pada tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung reaksi II terbentuk endapan putih atau kekuning-kuningan, menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak pekat daun Katuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Kemudian ditambahkan logam Mg dan 0,5 mL HCl pekat. Ekstrak yang positif mengandung flavonoid akan membentuk larutan merah atau jingga.

c. Uji Tanin

Sebanyak 0,1 gram ekstrak pekat daun Katuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Ekstrak yang positif mengandung tanin akan menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa tanin galat.

d. Uji Saponin

Sebanyak 0,1 gram ekstrak pekat daun Katuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit. Selama proses pengocokan, apabila menimbulkan busa maka ditambahkan 2 tetes HCl 1N dan dibiarkan selama 10 menit. Ekstrak yang positif mengandung saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang tetap stabil setelah proses pengocokan.

e. Uji Triterpenoid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak pekat daun Katuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Larutan campuran tersebut selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Ekstrak yang positif mengandung triterpenoid ditunjukkan dengan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, sedangkan adanya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

3.4.6 Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLT Analitik (Khozaimah, 2015)

Uji senyawa aktif dengan KLTA dilakukan pada ekstrak yang memberikan hasil positif pada uji fitokimia. Identifikasi senyawa aktif dengan KLT analitik dilakukan pada ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter.

a. Persiapan Plat KLT

Plat yang digunakan pada tahap identifikasi adalah plat silika gel G₆₀F₂₅₄ dengan ukuran 6 cm x 10 cm. Kemudian diberi tanda garis dengan jarak ± 1 cm menggunakan pensil pada bagian atas dan bawah plat, lalu diberi titik penandaan pada garis plat KLT untuk menunjukkan posisi awal totalan. Plat KLT silika gel G₆₀F₂₅₄ diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 60-80°C selama 30 menit.

b. Persiapan Fase Gerak (Eluen) (Rohmaniyah, 2016)

Senyawa aktif dapat diidentifikasi dengan eluen yang berbeda dimana eluen tersebut memiliki campuran yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan dalam *great chamber* dan dilakukan penjenuhan selama 20-30 menit. Cara mengetahui tingkat penjenuhan suatu eluen adalah dengan membasahi kertas saring dengan uap eluen. Penjenuhan dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana, sehingga senyawa aktif akan terpisah dengan baik.

- Golongan Senyawa Alkaloid

Penentuan senyawa alkaloid digunakan eluen kloroform : metanol (9:1) (Suriyawati, 2018; Mamluatuzzahro', 2018) dan eluen kloroform : metanol (1:4) (Sakinah, 2017; Kholifah, 2018; Mamluatuzzahro', 2018). Bercak noda disemprot dengan reagen dragendroff dan diamati dengan lampu UV 254 dan 366 nm menghasilkan warna kuning-kemerahan.

- Golongan Senyawa Flavonoid

Penentuan senyawa flavonoid digunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) disemprot dengan reagen FeCl_3 dan diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm (Maulana, 2018) dan eluen metanol : aquades (4:6) bercak noda disemprot dengan FeCl_3 1% dan diperiksa dengan lampu UV menghasilkan warna merah (Sakinah, 2017; Suriyawati, 2018; Kholifah, 2018; Mamluatuzzahro', 2018).

- Golongan Senyawa Saponin

Penentuan senyawa saponin digunakan eluen kloroform : aseton (4:1) bercak noda disemprot penampak noda Lieberman-Buchard dan dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit menghasilkan warna ungu (Sakinah, 2017;

Suriyawati, 2018; Kholifah, 2018; Mamluatuzzahro', 2018; Jannah, 2018) dan eluen kloroform : metanol : air (3:1:1) (Mamluatuzzahro', 2018)

- Golongan Senyawa Tanin

Penentuan senyawa tanin digunakan eluen n-heksana : etil asetat (3:2) (Rohmaniyah, 2016; Sholikhah, 2016; Sakinah, 2017; Suriyawati, 2018; Kholifah, 2018; Mamluatuzzahro', 2018), eluen n-heksana : etil asetat (19:1) dan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) (Mabruroh, 2015) bercak noda disemprot dengan pereaksi FeCl_3 1% dan diamati dengan lampu UV 254 dan 366 nm.

- Senyawa Triterpenoid

Penentuan senyawa triterpenoid digunakan eluen n-heksana : etil asetat (7,5:2,5) (Maulana, 2018) disemprot dengan reagen Liebermann Burchard diamati pada lampu UV 366 nm (Maulana, 2018) dan eluen n-heksana : etil asetat (17:3) (Sakinah, 2017; Suriyawati, 2018).

- Senyawa Steroid

Penentuan senyawa steroid digunakan eluen n-heksana : etil asetat (7:3) (Rohmaniyah, 2016; Jannah, 2018), eluen n-heksana : etil asetat (15:5) (Sulistiyani, 2018) dan eluen n-heksana : etil asetat (17:3) (Baderos, 2017) disemprot dengan reagen Liebermann Burchard.

c. Penotolan Sampel

Ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk diambil 50 mg dan dilarutkan dengan 5 mL pelarutnya. Penotolan dilakukan dengan ekstrak sebanyak 1 μL (1-10 total) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler dan dikeringkan dengan diangin-anginkan.

d. Pengembangan

Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat KLT selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Plat KLT dimasukkan ke dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, kemudian *great chamber* ditutup rapat hingga fase gerak mencapai jarak ± 1 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan diangin-anginkan. KLT analitik dilakukan untuk menentukan eluen terbaik pemisahan senyawa aktif daun Katuk.

e. Identifikasi

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika gel $G_{60}F_{254}$ kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya disemprot dengan reagen pendeteksi noda sesuai senyawa metabolit sekunder. Noda yang terbentuk diamati dan dilingkari dengan pensil. Pengamatan noda hasil elusi meliputi jumlah, bentuk, nilai R_f serta warna yang dihasilkan. Bercak noda yang dihasilkan pada masing-masing plat KLT selanjutnya dihitung nilai R_f -nya.

3.4.7 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk yang diduga mengandung senyawa aktif diidentifikasi dengan spektrofotometer FT-IR merk varian tipe FT 1000. Ekstrak dilarutkan dengan sedikit pelarut dengan konsentrasi 10 ppm, kemudian diuapkan dan ditambahkan KBr. KBr yang mengandung sampel dibentuk pelet dan dianalisis dengan spektrofotometer FT-IR merk varian tipe FT 1000 pada rentang bilangan gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan hasil ekstraksi daun Katuk dengan variasi pelarut yaitu air, metanol, etanol, etil

asetat dan petroleum eter. Kemudian memperhatikan hasil uji fitokimia dan hasil pemisahan dengan KLT analitik meliputi pola pemisahan pada kromatogram, penampakan noda dan eluen terbaik dari beberapa jenis eluen yang digunakan. Ekstrak kasar daun Katuk diidentifikasi dengan spektrofotometer FT-IR. Kemudian memperhatikan spektrum untuk mengetahui serapan gugus-gugus fungsional yang menyusun struktur senyawa aktif dan untuk menentukan jenis senyawa aktif yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi pada daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). Pada uji aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} diperoleh dari nilai konsentrasi dan persen antioksidan yang dianalisis menggunakan persamaan regresi menggunakan program “GraphPad prism5 software.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) pada penelitian ini diperoleh dari Lowokwaru, Malang. Tahapan preparasi sampel daun Katuk meliputi pencucian, pengeringan dan penyerbukan. Pencucian sampel bertujuan untuk menghilangkan pengotor dan benda asing yang menempel pada daun. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi dan tidak mudah rusak oleh adanya mikroba. Daun Katuk kering kemudian dihaluskan di Mortar dan Pestle dengan ukuran 90 mesh. Tujuan penyerbukan sampel adalah untuk menyeragamkan ukuran sampel dan memperluas permukaan sehingga mempermudah kontak antara sampel dengan pelarut pada saat ekstraksi (Mabruroh, 2015). Hasil pengeringan dari 1,52 kilogram sampel basah menghasilkan 450 gram serbuk daun Katuk berwarna hijau.

4.2 Analisis Kadar Air secara Thermogravimetri

Penentuan kadar air penting dilakukan untuk menentukan *acceptability*, dimana kadar air kecil akan mendukung tercapainya kestabilan optimum suatu bahan dan menghindari adanya pertumbuhan mikroba (Shoviyyah, 2019). Hasil pengukuran kadar air simplisia daun Katuk pada penelitian ini sebesar 7,7 % (Lampiran 4.1). Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air yang memenuhi standar Depkes RI (1994) dengan batas maksimum kadar air yang disyaratkan sebesar 10%. Semakin kecil kadar air maka proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut akan lebih maksimal karena tidak terhalang oleh air yang ada pada sampel.

4.3 Ekstraksi Ultrasonik *Sauropus androgynus* L. Merr

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan senyawa metabolit sekunder dengan bantuan pelarut. Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi ultrasonik. Prinsip ekstraksi ultrasonik adalah adanya gelombang yang merambat melalui medium yang dilewati sehingga menimbulkan getaran. Getaran yang ditimbulkan menyebabkan terbentuknya gelembung kavitasi yang menyebabkan dinding sel pada tanaman pecah, sehingga komponen di dalam sel keluar bercampur dengan pelarut (Rahmah, 2018).

Ekstraksi ultrasonik daun Katuk dilakukan dengan variasi pelarut air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter. Variasi pelarut memungkinkan terjadinya ekstraksi senyawa metabolit sekunder dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Proses ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan perbandingan bahan : pelarut (1:10) dengan frekuensi 42 kHz pada suhu ruang selama 20 menit yang merupakan waktu terbaik untuk ekstraksi ultrasonik suatu sampel. Ekstrak hasil ekstraksi ultrasonik dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dan dihitung nilai rendemennya. Nilai rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini ditampilkan pada Tabel 4.1 dengan perhitungan rendemen ekstrak pekat daun Katuk pada Lampiran 4.4.

Tabel 4.1 Hasil ekstrak pekat daun Katuk dengan variasi pelarut

| Variasi Pelarut | Warna Filtrat | Warna Ekstrak Pekat | Rendemen (%) |
|-----------------|-----------------|---------------------|--------------|
| Air | Coklat | Coklat kehitaman | 34,49 |
| Metanol | Hijau kehitaman | Hijau kehitaman | 15,74 |
| Etanol | Hijau kehitaman | Hijau kehitaman | 16,54 |
| Etil asetat | Hijau kehitaman | Hijau kehitaman | 4,64 |
| Petroleum eter | Hijau kehitaman | Hijau kecoklatan | 3,10 |

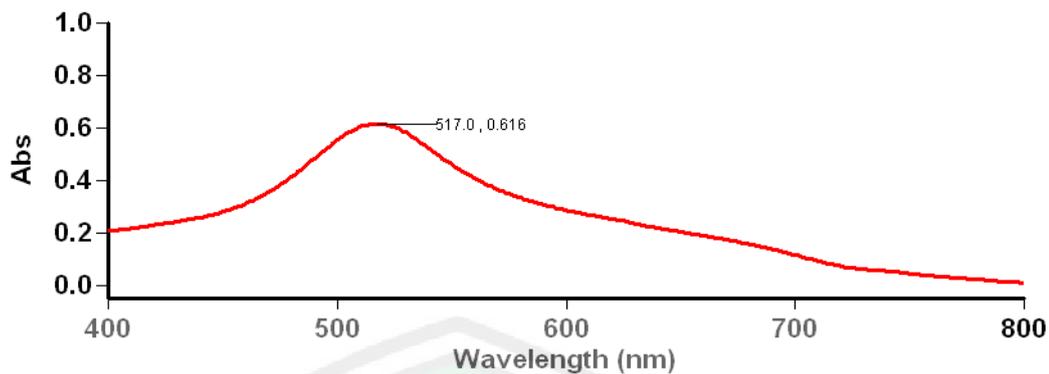
Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk berturut-turut sebesar 34,49; 15,74; 16,54; 4,64 dan 3,10%. Hal ini menunjukkan bahwa rendemen tertinggi ekstrak daun Katuk adalah ekstrak air dengan rendemen 34.49%. Diduga senyawa aktif dalam daun Katuk lebih cenderung bersifat polar atau masih dalam bentuk glikosida. Hal ini disebabkan sampel yang digunakan masih berupa ekstrak kasar, dimana senyawa metabolit sekunder masih berikatan dengan gula (glikon) membentuk senyawa glikosida yang memiliki OH hidroksil.

4.4 Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki absorbansi tertinggi. Pengukuran sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum untuk memperoleh kepekaan maksimal dan meminimalkan kesalahan. Hal ini dikarenakan pada panjang gelombang maksimum perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi memiliki nilai paling besar (Shoviyyah, 2019).

Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dan memiliki absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm (Prakash, 2001). Pengukuran panjang gelombang DPPH sebagai kontrol bertujuan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran dan menjaga kekonstanan konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2004). Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,2 mM adalah 517 nm. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

4.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun Katuk dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk metode DPPH. Pada pemeriksaan sampel, ekstrak diencerkan dalam beberapa konsentrasi yang kemudian direaksikan dengan DPPH dengan selang waktu 5 menit selama 30 menit yang merupakan waktu optimal untuk DPPH bereaksi (Nurdianti & Tuslinah, 2017). Variasi konsentrasi pada penelitian ini adalah 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya adalah ekstrak kasar air, metanol, etanol, etil asetat, petroleum eter daun Katuk dan vitamin C sebagai pembanding aktivitas antioksidan sampel.

Nilai absorbansi sampel yang telah direduksi DPPH dengan nilai absorbansi kontrol merupakan absorbansi sisa radikal DPPH yang tak bereaksi. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun Katuk menggunakan larutan kontrol DPPH 0,2 mM (Lampiran 4). Hasil pengukuran % aktivitas antioksidan dan nilai IC_{50} ekstrak daun Katuk pada variasi pelarut dan pembanding asam askorbat (vitamin C) ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil % aktivitas antioksidan dan nilai IC₅₀ ekstrak daun Katuk pada variasi pelarut dan pembanding asam askorbat

| Sampel | Konsentrasi | % Aktivitas Antioksidan | Nilai IC ₅₀ (ppm) |
|------------------------|-------------|-------------------------|------------------------------|
| Ekstrak air | 5 ppm | 2,162 | 1624 |
| | 10 ppm | 2,810 | |
| | 15 ppm | 2,841 | |
| | 20 ppm | 3,612 | |
| | 25 ppm | 3,855 | |
| Ekstrak metanol | 5 ppm | 4,486 | 829,8 |
| | 10 ppm | 6,263 | |
| | 15 ppm | 7,327 | |
| | 20 ppm | 7,828 | |
| | 25 ppm | 8,639 | |
| Ekstrak etanol | 5 ppm | 2,480 | 329,9 |
| | 10 ppm | 2,994 | |
| | 15 ppm | 3,886 | |
| | 20 ppm | 4,559 | |
| | 25 ppm | 6,665 | |
| Ekstrak etil asetat | 5 ppm | 1,893 | 43,67 |
| | 10 ppm | 5,787 | |
| | 15 ppm | 9,088 | |
| | 20 ppm | 11,766 | |
| | 25 ppm | 15,840 | |
| Ekstrak petroleum eter | 5 ppm | 0,249 | 75,39 |
| | 10 ppm | 5,242 | |
| | 15 ppm | 7,143 | |
| | 20 ppm | 8,947 | |
| | 25 ppm | 10,163 | |
| Asam askorbat | 5 ppm | 77,394 | 2,535 |
| | 10 ppm | 95,314 | |
| | 15 ppm | 95,782 | |
| | 20 ppm | 96,254 | |
| | 25 ppm | 96,383 | |

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa nilai IC₅₀ ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk secara berturut-turut sebesar 1624; 829,8; 329,9; 43,67 dan 75,39 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun Katuk memiliki potensi aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ 43,67 ppm, sedangkan ekstrak air daun Katuk memiliki potensi aktivitas antioksidan terendah dengan nilai IC₅₀ 1624 ppm. Ekstrak etil asetat daun Katuk

memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, ekstrak petroleum eter daun Katuk memiliki aktivitas antioksidan yang kuat serta ekstrak air, metanol dan etanol daun Katuk memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah dibanding asam askorbat. Nurdianti dan Tuslinah (2017) menyatakan bahwa nilai $IC_{50} < 50$ menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, IC_{50} 50-100 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, sedangkan nilai $IC_{50} > 200$ ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Pembandingan asam askorbat memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,535 ppm yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Menurut Puspitasari dan Ningsih (2016) tingginya aktivitas antioksidan asam askorbat disebabkan oleh asam askorbat yang merupakan senyawa murni yang memiliki kemampuan lebih besar untuk mendonorkan protonnya, sedangkan ekstrak daun Katuk terdiri dari berbagai macam senyawa metabolit sekunder yang saling berinteraksi menimbulkan aktivitas tertentu. Sehingga daya atau kemampuan aktivitas antioksidan yang ditimbulkan berbeda-beda. Ekstrak etil asetat daun Katuk dan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, meskipun aktivitas antioksidan ekstrak daun Katuk lebih rendah dari vitamin C namun ekstrak daun Katuk berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

4.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tanaman dengan reaksi pengujian warna pada penambahan suatu reaksi warna (Kristanti, dkk., 2008). Uji fitokimia dilakukan pada ekstrak kasar air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk. Hasil pengujian fitokimia ekstrak daun Katuk ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia ekstrak daun Katuk

| Golongan Senyawa | Jenis Bahan Uji | | | | |
|------------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------------|------------------------|
| | Ekstrak Air | Ekstrak Metanol | Ekstrak Etanol | Ekstrak Etil Asetat | Ekstrak Petroleum Eter |
| Flavonoid | + | + | + | - | - |
| Alkaloid | + | - | - | - | - |
| Tanin | + | + | + | - | - |
| Saponin | - | - | - | - | - |
| Steroid | + | + | + | + | + |
| Terpenoid | + | + | + | + | + |

Keterangan : + = Positif mengandung senyawa

- = Negatif mengandung senyawa

Berdasarkan hasil uji fitokimia, dapat diketahui bahwa ekstrak daun Katuk mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan terpenoid. Hasil positif pada uji flavonoid ditandai dengan adanya warna jingga pada penambahan serbuk Mg. Flavonoid tereduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan warna merah, kuning atau jingga (Zuhra, dkk., 2008). Hasil positif uji alkaloid ditandai dengan adanya endapan jingga pada penambahan reagen Dragendroff dan adanya endapan putih pada penambahan reagen Mayer. Endapan terbentuk karena adanya senyawa kompleks yang terbentuk antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Hasil positif uji tanin ditandai dengan adanya warna coklat sampai hitam pekat ketika ditetesi dengan reagen FeCl_3 . Hal ini dikarenakan pereaksi FeCl_3 berfungsi sebagai pengikat kompleksitas tanin.

Ekstrak sampel yang positif mengandung steroid ditunjukkan dengan perubahan warna ekstrak menjadi kebiru-biruan setelah ditambahkan dietil ether, asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Reaksi yang terjadi antara steroid dengan asam asetat anhidrat adalah reaksi asetilasi gugus $-\text{OH}$ pada steroid yang akan menghasilkan senyawa kompleks asetil steroid. Hasil uji positif triterpenoid ditunjukkan dengan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua

pelarut (Shoviyyah, 2019). Hasil negatif pada uji fitokimia diasumsikan bahwa senyawa aktif pada sampel memiliki kandungan yang sangat sedikit dan bahkan cenderung tidak ada (Putranto, dkk., 2014). Ekstrak etil asetat daun Katuk memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar daripada ekstrak air, metanol, etanol dan petroleum eter daun Katuk. Hal tersebut dipengaruhi oleh adanya senyawa steroid dan triterpenoid yang diduga memiliki aktivitas yang sinergis sehingga mampu memberikan aktivitas antioksidan yang kuat (Sari, dkk., 2015).

4.6 Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLT Analitik

Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) digunakan untuk menentukan eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam memisahkan senyawa metabolit sekunder (Gandjar & Rohman, 2007). Kepolaran senyawa disebabkan oleh perbedaan struktur, dimana senyawa polar akan lebih terdistribusi pada fase diam (polar) dibandingkan pada fase gerak. Hal ini menyebabkan nilai R_f yang dihasilkan kecil dan sebaliknya (Effendy, 2010).

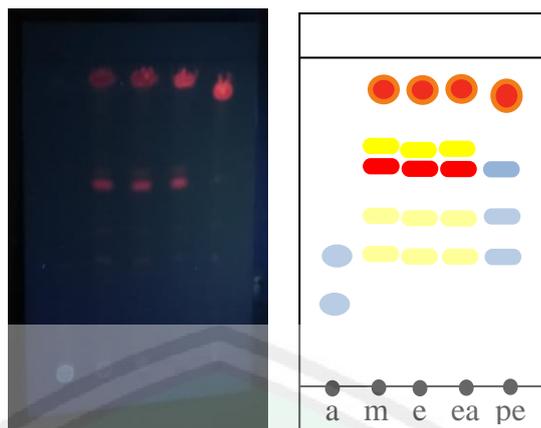
4.6.1 Alkaloid

Uji adanya kandungan senyawa alkaloid pada sampel ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga pada penambahan reagen Dragendroff dan endapan putih pada penambahan reagen Mayer. Ekstrak Katuk diuji menggunakan KLTA untuk memastikan hasil positif pada uji reagen. Noda yang dihasilkan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm. Noda yang diduga senyawa alkaloid adalah noda dengan warna kuning kemerahan (Masfufah, 2016) atau bercak jingga-coklat pada sinar tampak (Rusdi, dkk., 2018). Data penampakan noda dugaan senyawa alkaloid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Data penampakan noda dugaan senyawa alkaloid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen

| Eluen | Sampel | Jumlah Noda | Nilai Rf | Keterangan |
|----------------------------------|------------------------|-------------|---------------------------------|--------------------|
| Kloroform : metanol (9:1) | Ekstrak air | 2 | 0,15; 0,34 | Terpisah |
| | Ekstrak metanol | 5 | 0,34; 0,44; 0,59; 0,63; 0,93 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 5 | 0,33; 0,43; 0,58; 0,61; 0,91 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 5 | 0,33; 0,43; 0,58; 0,61; 0,91 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 4 | 0,33; 0,43; 0,58; 0,86 | Terpisah |
| Kloroform : metanol (2:8) | Ekstrak air | 2 | 0,23; 0,56 | Terpisah (berekor) |
| | Ekstrak metanol | 2 | 0,64; 0,76 | Terpisah (berekor) |
| | Ekstrak etanol | 2 | 0,66; 0,79 | Terpisah (berekor) |
| | Ekstrak etil asetat | 2 | 0,68; 0,79 | Terpisah (berekor) |
| | Ekstrak petroleum eter | 2 | 0,65; 0,74 | Terpisah (berekor) |

Hasil KLTA senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya noda berwarna kuning kemerahan pada ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk dengan eluen kloroform : metanol (9:1). Hasil pemisahan senyawa alkaloid ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk menghasilkan masing-masing 5, 5, 5 dan 4 noda. Noda-noda tersebut terpisah berdasarkan tingkat kepolarannya, dimana noda dengan nilai Rf kecil cenderung bersifat polar karena lebih terdistribusi ke fase diam. Adapun noda dengan nilai Rf besar cenderung bersifat non polar karena lebih terdistribusi ke fase gerak (Effendy, 2010). Senyawa alkaloid pada ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter memiliki masing-masing 1 noda yang terdistribusi pada fase gerak dengan nilai Rf pada rentang (0,86 – 0,93).



Gambar 4.2 Hasil KLT senyawa alkaloid ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen kloroform : metanol (9:1)

Tabel 4.5 Dugaan senyawa alkaloid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen kloroform : metanol (9:1)

| Sampel | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------|---|------------------------|
| Ekstrak air | 0,15 | Biru pudar | - |
| | 0,34 | Biru pudar | - |
| Ekstrak metanol | 0,34 | Kuning pudar | - |
| | 0,44 | Kuning pudar | - |
| | 0,59 | Merah | - |
| | 0,63 | Kuning | - |
| | 0,93 | Merah kekuningan | Alkaloid |
| Ekstrak etanol | 0,33 | Kuning pudar | - |
| | 0,43 | Kuning pudar | - |
| | 0,58 | Merah | - |
| | 0,61 | Kuning | - |
| | 0,91 | Merah kekuningan | Alkaloid |
| Ekstrak etil asetat | 0,33 | Kuning pudar | - |
| | 0,43 | Kuning pudar | - |
| | 0,58 | Merah | - |
| | 0,61 | Kuning | - |
| | 0,91 | Kuning kemerahan | Alkaloid |
| Ekstrak petroleum eter | 0,33 | Biru pudar | - |
| | 0,43 | Biru pudar | - |
| | 0,58 | Biru | - |
| | 0,86 | Kuning kemerahan | Alkaloid |

4.6.2 Flavonoid

Ekstrak sampel yang menunjukkan hasil positif flavonoid akan membentuk garam flavinium yang ditandai dengan munculnya warna merah, kuning atau jingga pada penambahan HCl pekat dan logam Mg (Septyaningsih,

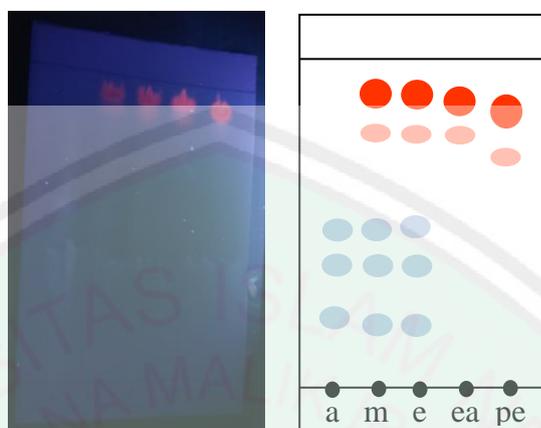
dkk., 2010). Noda yang dihasilkan pada KLTA dan diduga sebagai senyawa flavonoid akan menunjukkan bercak noda warna merah (Mamluatzahro', 2018) atau bercak ungu dibawah lampu UV 366 nm (Rusdi, dkk., 2018). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter mengandung flavonoid dengan munculnya bercak berwarna merah atau jingga. Data penampakan noda dugaan senyawa flavonoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Data penampakan noda dugaan senyawa flavonoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen

| Eluen | Sampel | Jumlah Noda | Nilai Rf | Keterangan |
|--|------------------------|-------------|---------------------------------|----------------|
| n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) | Ekstrak air | 3 | 0,53; 0,62; 0,71 | Terpisah |
| | Ekstrak metanol | 5 | 0,49; 0,61; 0,71; 0,89; 0,94 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 5 | 0,49; 0,61; 0,72; 0,89; 0,94 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 2 | 0,89; 0,92 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 2 | 0,85; 0,91 | Terpisah |
| Metanol : aquades (4:6) | Ekstrak air | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak metanol | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak etanol | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 0 | - | Tidak terpisah |

Hasil identifikasi menggunakan KLTA menunjukkan bahwa pemisahan senyawa flavonoid ekstrak daun Katuk menghasilkan pola pemisahan terbaik pada eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Hasil pemisahan senyawa flavonoid pada ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter menghasilkan masing-masing 5, 5, 2 dan 2 noda terpisah. Senyawa flavonoid pada sampel ekstrak

metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter memiliki masing-masing 2 noda yang terdistribusi pada fase gerak dengan nilai Rf pada rentang (0,89 - 0,94).



Gambar 4.3 Hasil KLTA senyawa flavonoid ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

Tabel 4.7 Dugaan senyawa flavonoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

| Sampel | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------|---|------------------------|
| Ekstrak air | 0,53 | Biru | - |
| | 0,62 | Biru | - |
| | 0,71 | Biru | - |
| Ekstrak metanol | 0,49 | Biru | - |
| | 0,61 | Biru | - |
| | 0,71 | Biru | - |
| | 0,89 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 0,94 | Jingga | Flavonoid |
| | | | |
| Ekstrak etanol | 0,49 | Biru | - |
| | 0,61 | Biru | - |
| | 0,72 | Biru | - |
| | 0,89 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 0,94 | Jingga | Flavonoid |
| Ekstrak etil asetat | 0,89 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 0,92 | Jingga | Flavonoid |
| Ekstrak petroleum eter | 0,85 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 0,91 | Jingga | Flavonoid |

4.6.3 Tanin

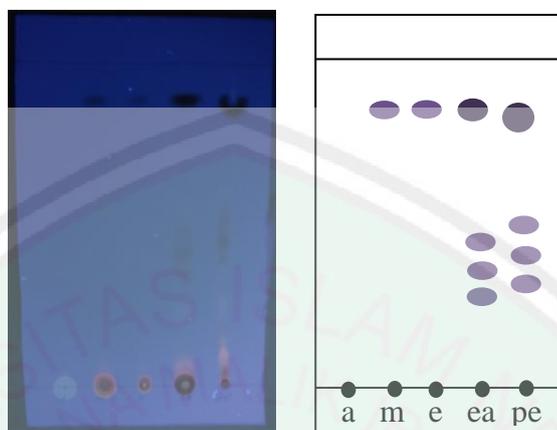
Data penampakan noda dugaan senyawa tanin ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Data penampakan noda dugaan senyawa tanin ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen

| Eluen | Sampel | Jumlah Noda | Nilai Rf | Keterangan |
|---|------------------------|-------------|---------------------------------------|----------------|
| n-Heksana : etil asetat (19:1) | Ekstrak air | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak metanol | 1 | 0,89 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 1 | 0,89 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 4 | 0,35; 0,41; 0,48; 0,89 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 4 | 0,39; 0,45; 0,51; 0,85 | Terpisah |
| n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5) | Ekstrak air | 3 | 0,53; 0,62; 0,71 | Terpisah |
| | Ekstrak metanol | 5 | 0,49; 0,61; 0,71; 0,89; 0,94 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 5 | 0,49; 0,61; 0,72; 0,89; 0,94 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 2 | 0,89; 0,92 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 2 | 0,85; 0,91 | Terpisah |
| n-Heksana : etil asetat (6:4) | Ekstrak air | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak metanol | 6 | 0,56; 0,65; 0,72; 0,77; 0,82; 0,86 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 5 | 0,54; 0,62; 0,77; 0,82; 0,86 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 4 | 0,78; 0,84; 0,87; 0,95 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 5 | 0,42; 0,66; 0,75; 0,78; 0,82 | Terpisah |

Ekstrak sampel yang positif mengandung tanin akan berubah warna menjadi lebih pekat, coklat sampai hitam pekat ketika ditetesi pereaksi FeCl_3 . Perubahan warna terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara

logam Fe dan tanin. Hasil pemisahan senyawa tanin menggunakan KLTA akan menghasilkan bercak noda berwarna ungu atau ungu kehitaman (Jannah, 2018).



Gambar 4.4 Hasil KLTA senyawa tanin ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen n-heksana : etil asetat (19:1)

Tabel 4.9 Dugaan senyawa tanin ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen n-heksana : etil asetat (19:1)

| Sampel | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------|---|------------------------|
| Ekstrak air | - | - | - |
| Ekstrak metanol | 0,89 | Ungu kehitaman | Tanin |
| Ekstrak etanol | 0,89 | Ungu kehitaman | Tanin |
| Ekstrak etil asetat | 0,35 | Ungu | Tanin |
| | 0,41 | Ungu | Tanin |
| | 0,48 | Ungu | Tanin |
| | 0,89 | Ungu kehitaman | Tanin |
| Ekstrak petroleum eter | 0,39 | Ungu | Tanin |
| | 0,45 | Ungu | Tanin |
| | 0,51 | Ungu | Tanin |
| | 0,85 | Ungu kehitaman | Tanin |

Hasil KLTA senyawa tanin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya noda berwarna ungu atau ungu kehitaman pada ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk dengan eluen n-heksana : etil asetat (15:5). Hasil pemisahan senyawa tanin pada ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter menghasilkan masing-masing 1, 1, 4 dan 4 noda terpisah. Senyawa tanin pada ekstrak metanol dan etanol memiliki masing-masing

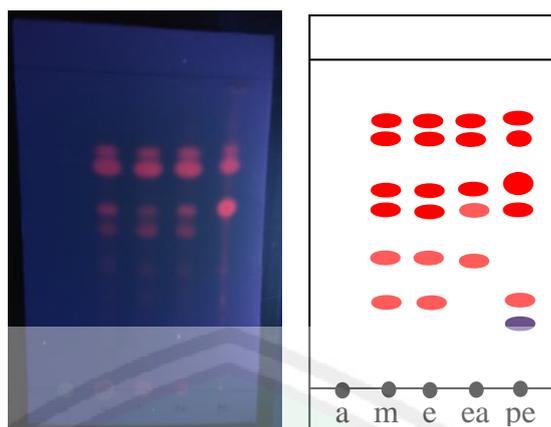
2 noda, sedangkan ekstrak etil asetat dan petroleum eter memiliki masing-masing 4 noda yang terdistribusi pada fase gerak pada rentang nilai Rf (0,35 – 0,89).

4.6.4 Triterpenoid

Hasil KLTA senyawa triterpenoid akan menghasilkan bercak noda berwarna merah-ungu (violet), ungu tua atau merah muda (Maulana, 2018). Data penampakan noda dugaan senyawa triterpenoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Data penampakan noda dugaan senyawa triterpenoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan beberapa variasi eluen

| Eluen | Sampel | Jumlah Noda | Nilai Rf | Keterangan |
|---|------------------------|-------------|---------------------------------------|----------------|
| n-Heksana : etil asetat (7,5:2,5) | Ekstrak air | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak metanol | 3 | 0,66; 0,73; 0,80 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 3 | 0,68; 0,73; 0,80 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 3 | 0,68; 0,73; 0,80 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 2 | 0,74; 0,80 | Terpisah |
| n-Heksana : etil asetat (15:5) | Ekstrak air | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak metanol | 6 | 0,29; 0,39; 0,52; 0,58; 0,71; 0,76 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 6 | 0,29; 0,39; 0,51; 0,57; 0,71; 0,76 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 5 | 0,38; 0,51; 0,58; 0,71; 0,76 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 6 | 0,25; 0,29; 0,38; 0,59; 0,72; 0,77 | Terpisah |
| n-Heksana : etil asetat (17:3) | Ekstrak air | 0 | - | Tidak terpisah |
| | Ekstrak metanol | 2 | 0,20; 0,34 | Terpisah |
| | Ekstrak etanol | 2 | 0,20; 0,35 | Terpisah |
| | Ekstrak etil asetat | 2 | 0,21; 0,35 | Terpisah |
| | Ekstrak petroleum eter | 2 | 0,21; 0,35 | Terpisah |



Gambar 4.5 Hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak air (a), metanol (m), etanol (e), etil asetat (ea) dan petroleum eter (pe) dengan eluen n-heksana : etil asetat (15:5)

Tabel 4.11 Dugaan senyawa triterpenoid ekstrak Katuk variasi pelarut dengan eluen n-heksana : etil asetat (15:5)

| Sampel | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------|---|------------------------|
| Ekstrak air | - | - | - |
| Ekstrak metanol | 0,29 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 0,39 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 0,52 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,58 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,71 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak etanol | 0,29 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 0,39 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 0,51 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,57 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,71 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak etil asetat | 0,38 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 0,51 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 0,58 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,71 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,76 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak petroleum eter | 0,25 | Ungu kehitaman | - |
| | 0,29 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 0,38 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,59 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,72 | Merah | Triterpenoid |
| | 0,77 | Merah | Triterpenoid |

Identifikasi senyawa triterpenoid pada ekstrak daun Katuk dapat dilakukan dengan penambahan reagen Libermann-Burchard yang akan membentuk warna

merah, jingga, kuning, ungu, cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut (Lestari, 2011). Reaksi antara triterpenoid dengan reagen Libermann-Burchard menghasilkan perpanjangan konjugasi menjadi asam sulfonat triterpenheksaene mengakibatkan perubahan warna pada senyawa triterpenoid.

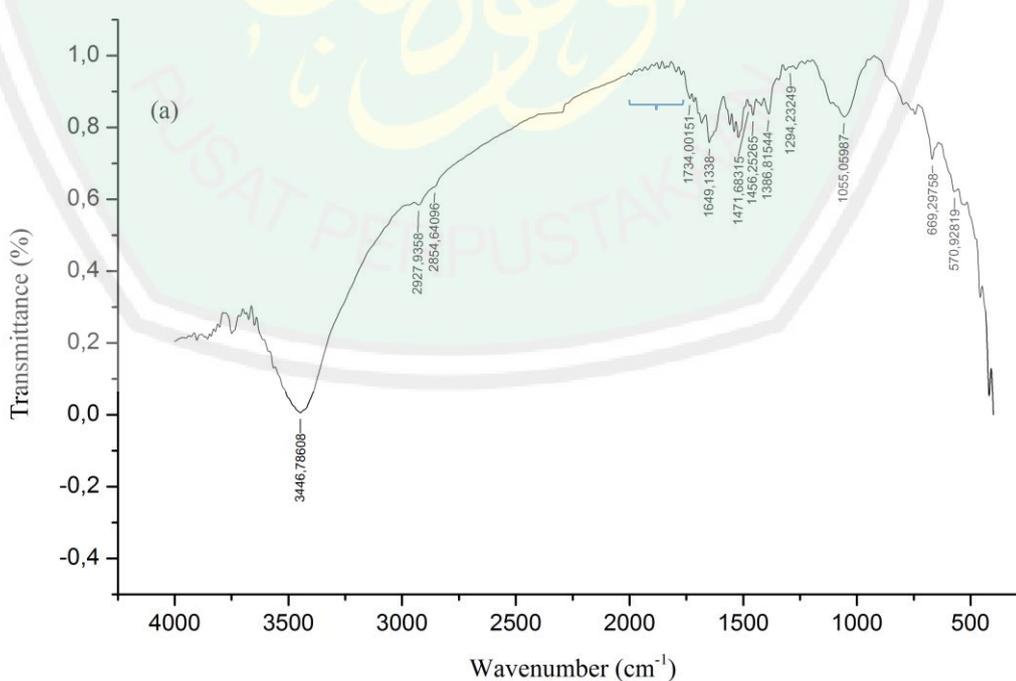
Hasil KLTA menunjukkan bahwa pemisahan terbaik senyawa triterpenoid didapat pada eluen n-heksana : etil asetat (15:5). Hasil pemisahan senyawa triterpenoid pada ekstrak metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter menghasilkan masing-masing 6, 6, 5 dan 6 noda terpisah. Senyawa triterpenoid pada sampel ekstrak metanol, etanol, memiliki masing-masing 6 noda, sedangkan sampel ekstrak etil asetat dan petroleum eter memiliki masing-masing 5 noda yang terdistribusi pada fase gerak dengan nilai Rf pada rentang (0,29 – 0,77).

Analisis menggunakan KLTA dilakukan untuk mempertegas hasil yang diperoleh pada uji fitokimia. Pada uji fitokimia ekstrak air daun Katuk menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan triterpenoid. Pada pemisahan menggunakan KLTA senyawa tersebut tidak menunjukkan hasil pemisahan yang baik. Hal ini dibuktikan dengan tidak munculnya senyawa-senyawa tersebut pada beberapa variasi eluen yang digunakan. Diduga ekstrak air yang bersifat polar menyebabkan senyawa tersebut lebih terdistribusi pada fase diam, sedangkan eluen yang digunakan bersifat kurang polar sehingga tidak mampu memisahkan senyawa-senyawa tersebut dengan baik. Menurut Wulandari (2011) faktor-faktor yang dapat menghambat migrasi komponen-komponen dalam sampel meliputi fraksi molekul, elektrostatik, adsorpsi, kelarutan, ikatan kimia dan interaksi molekul. Adanya ikatan kimia dan interaksi molekul antara analit fase diam dan fase gerak dapat menghambat pergerakan molekul analit.

Pada uji fitokimia, ekstrak metanol dan etanol daun Katuk menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, tanin, steroid dan triterpenoid. Namun pada pemisahan menggunakan KLTA menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Sedangkan pada uji fitokimia ekstrak etil asetat dan petroleum eter daun Katuk menunjukkan hasil positif pada uji steroid dan triterpenoid. Namun pada pemisahan menggunakan KLTA menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Hal ini menimbulkan adanya dugaan bahwa senyawa alkaloid pada ekstrak metanol dan etanol daun Katuk serta senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid pada ekstrak etil asetat dan petroleum eter daun Katuk memiliki kandungan yang sedikit. Putranto, dkk. (2014) menyatakan bahwa hasil negatif pada uji fitokimia diasumsikan bahwa senyawa aktif pada sampel memiliki kandungan yang sangat sedikit dan bahkan cenderung tidak ada.

4.7 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan FT-IR

4.7.1 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Air Daun Katuk



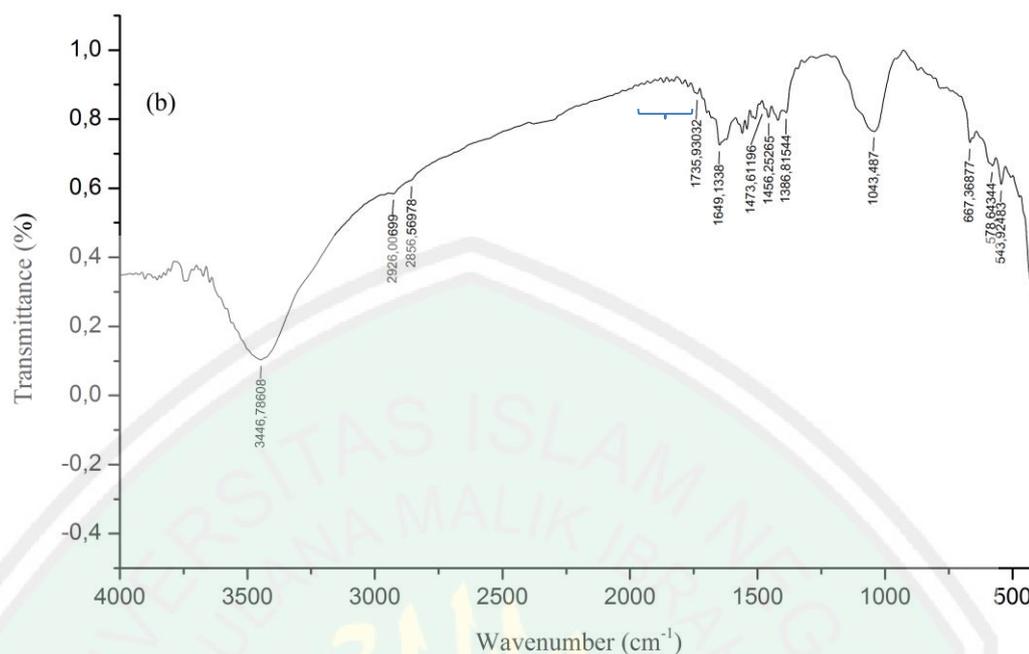
Gambar 4.6 Hasil spektra FTIR (a) ekstrak air daun Katuk

Tabel 4.12 Interpretasi spektra FTIR ekstrak air daun Katuk

| Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) | | Intensitas | Jenis Vibrasi |
|--|-----------------|------------------|---|
| Ekstrak Air | Socrates (1994) | (Socrates, 1994) | |
| 3446,786 | 3550 – 3250 | Sedang | O-H (<i>stretch</i>) |
| 2927,936 | 3000 – 2800 | Sedang | -CH ₃ <i>stretch asym</i> |
| 2854,641 | 2870 – 2840 | Lemah | -CH ₂ <i>stretch sym</i> |
| 2000 - 1750 | 2000 - 1650 | Lemah | <i>Overtone</i> aromatik |
| 1649,134 | 1650 – 1580 | Sedang | C=C (<i>stretch</i>) |
| 1471,683 | 1500 – 1400 | Lemah | C=C aromatik |
| 1456,252 | 1480 – 1440 | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1386,815 | 1395 – 1365 | Sedang | C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>) |
| 1294,232 | 1350 – 1280 | Lemah | C-N (<i>aromatic amine</i>) |
| 1055,060 | 1140 – 820 | Sedang | C-O (<i>stretch sym</i>) |
| 669,297 | 995 – 650 | Sedang | =C-H |
| 570,928 | 600 – 420 | Lemah | C-H <i>bending (out of plane)</i> |

Berdasarkan Gambar 4.7 dan Tabel 4.12 analisis hasil spektra FTIR ekstrak air daun Katuk menunjukkan adanya serapan melebar sebagai vibrasi ulur –OH pada bilangan gelombang 3446,786 cm⁻¹ dan diperkuat dengan vibrasi tekuk C-O alkohol pada daerah 1055,060 cm⁻¹. Vibrasi pada bilangan gelombang 2927,936 dan 2854,641 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatik *stretching* untuk gugus metil CH₃ dan metilena CH₂. Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi pada 1456,252 dan 1386,815 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya C-H alifatik *bending* serta serapan pada bilangan gelombang 570,928 cm⁻¹ yang merupakan serapan C-H *bending* keluar bidang. Adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1471,683 cm⁻¹ menunjukkan ikatan C=C aromatik yang diperkuat oleh adanya serapan lemah (*overtone*) pada daerah 2000-1750 cm⁻¹ yang sangat berguna untuk penentuan substitusi pada cincin aromatik serta terdapat serapan C-N aromatik amina pada 1294,232 cm⁻¹. Serapan pada daerah 1649,134 cm⁻¹ menunjukkan adanya uluran C=C *stretching* yang diperkuat dengan adanya tekukan =C-H pada bilangan gelombang 669,297 cm⁻¹.

4.7.2 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Metanol Daun Katuk



Gambar 4.7 Hasil spektra FTIR ekstrak (b) metanol daun Katuk

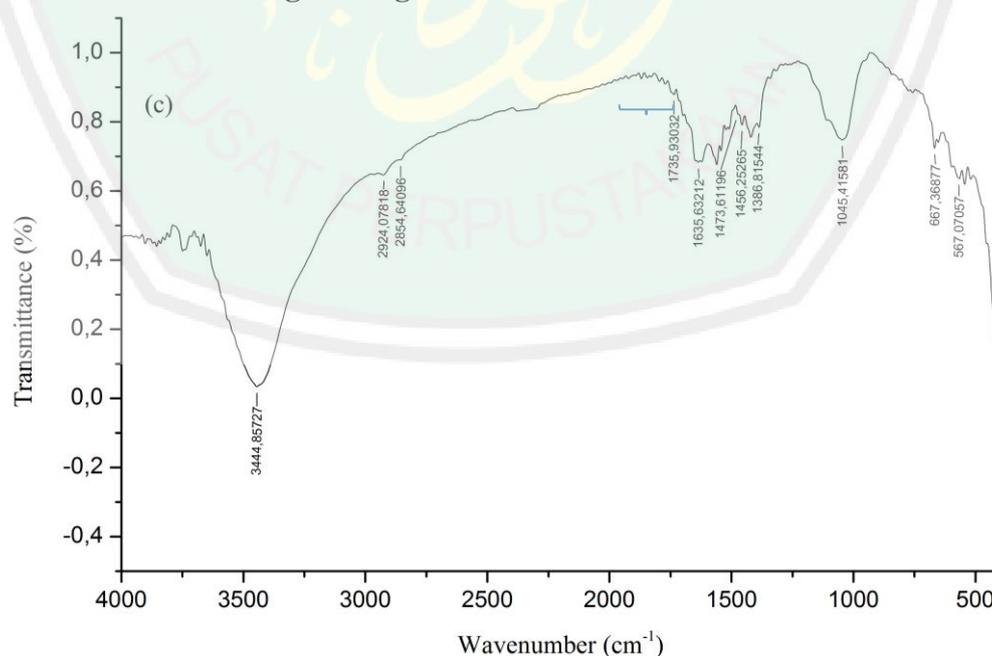
Tabel 4.13 Interpretasi spektra FTIR ekstrak metanol daun Katuk

| Bilangan Gelombang (cm^{-1}) | | Intensitas (Socrates, 1994) | Jenis Vibrasi |
|---|-----------------|--------------------------------|--|
| Ekstrak Metanol | Socrates (1994) | | |
| 3446,786 | 3550 – 3250 | Sedang | O-H (<i>stretch</i>) |
| 2926,007 | 3000 – 2800 | Sedang | -CH ₃ <i>stretch asym</i> |
| 2856,570 | 2870 – 2840 | Lemah | -CH ₂ <i>stretch sym</i> |
| 2000 - 1700 | 2000 – 1650 | Lemah | <i>Overtone</i> aromatik |
| 1649,134 | 1650 – 1580 | Sedang | C=C (<i>stretch</i>) |
| 1473,612 | 1500 – 1400 | Lemah | C=C aromatik |
| 1456,253 | 1480 – 1440 | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1386,815 | 1395 – 1365 | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1043,487 | 1140 – 820 | Sedang | C-O (<i>stretch sym</i>) |
| 667,369 | 995 – 650 | Sedang | =C-H |
| 578,643 | 600 – 420 | Lemah | C-H <i>bending (out of plane)</i> |
| 543,924 | 600 – 420 | Lemah | C-H <i>bending (out of plane)</i> , p-substitusi Benzene |

Hasil analisis spektra FTIR ekstrak metanol daun Katuk pada Gambar 4.8 menunjukkan adanya serapan melebar sebagai vibrasi ulur –OH pada bilangan gelombang 3446,786 cm^{-1} yang diperkuat dengan vibrasi ulur C-O alkohol pada

bilangan gelombang $1043,487\text{ cm}^{-1}$. Vibrasi pada bilangan gelombang $2926,007\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya C-H alifatik *stretching* untuk gugus metil CH_3 yang diperkuat dengan tekukan C-H pada daerah $1456,253\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada $2856,570\text{ cm}^{-1}$ diduga sebagai serapan C-H alifatik *stretching* untuk gugus metilena CH_2 yang diperkuat dengan vibrasi C-H alifatik *bending* pada $1386,815\text{ cm}^{-1}$ serta serapan pada bilangan gelombang $578,643\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan C-H *bending* keluar bidang. Tekukan C-H keluar bidang dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang $543,924\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya substitusi pada cincin benzena. Adanya gugus fungsi C=C aromatik ditunjukkan oleh bilangan gelombang $1473,612\text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat oleh adanya serapan lemah (*overtone*) pada daerah $2000\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ yang sangat berguna untuk penentuan substitusi pada cincin aromatik. Serapan pada daerah $1649,134\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya uluran C=C *stretching* yang diperkuat dengan adanya tekukan =C-H pada bilangan gelombang $667,643\text{ cm}^{-1}$.

4.7.3 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Etanol Daun Katuk



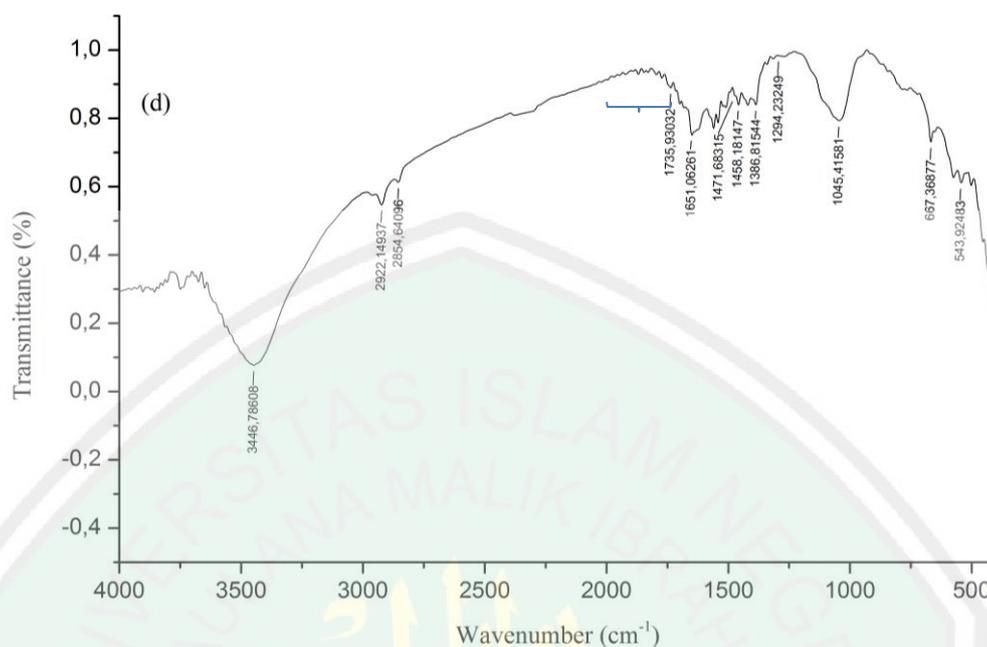
Gambar 4.8 Hasil spektra FTIR (c) ekstrak etanol daun Katuk

Tabel 4.14 Interpretasi spektra FTIR ekstrak etanol daun Katuk

| Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) | | Intensitas | Jenis Vibrasi |
|--|-----------------|------------------|---|
| Ekstrak Etanol | Socrates (1994) | (Socrates, 1994) | |
| 3444,857 | 3550 – 3250 | Sedang | O-H (<i>stretch</i>) |
| 2924,078 | 3000 – 2800 | Sedang | -CH ₃ <i>stretch asym</i> |
| 2854,640 | 2870 – 2840 | Lemah | -CH ₂ <i>stretch sym</i> |
| 2000 - 1750 | 2000 – 1650 | Lemah | <i>Overtone</i> aromatik |
| 1635,632 | 1680 – 1600 | Sedang | C=C (<i>stretch</i>) |
| 1473,612 | 1500 – 1400 | Lemah | C=C aromatik |
| 1458,253 | 1480 – 1440 | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1386,815 | 1395 – 1365 | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1045,416 | 1140 – 820 | Sedang | C-O (<i>stretch sym</i>) |
| 667,369 | 995 – 650 | Sedang | =C-H |
| 567,070 | 600 – 420 | Lemah | C-H <i>bending (out of plane)</i> |

Berdasarkan Gambar 4.9 dan Tabel 4.14 hasil analisis spektra FTIR ekstrak etanol daun Katuk menunjukkan adanya serapan melebar yang diduga sebagai vibrasi ulur –OH pada bilangan gelombang 3444,857 cm⁻¹ dan diperkuat dengan vibrasi tekuk C-O alkohol pada daerah 1045,416 cm⁻¹. Vibrasi pada bilangan gelombang 2924,078 dan 2854,640 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatik *stretching* untuk gugus metil CH₃ dan metilena CH₂. Hal ini diperkuat dengan adanya C-H alifatik *bending* pada bilangan gelombang 1458,253 dan 1386,815 cm⁻¹ serta serapan pada bilangan gelombang 567,070 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya serapan C-H *bending* keluar bidang. Adanya serapan C=C aromatik ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1473,612 cm⁻¹ yang diperkuat oleh adanya serapan lemah (*overtone*) pada daerah 2000-1750 cm⁻¹ yang sangat berguna untuk penentuan letak substitusi pada cincin aromatik. Serapan pada daerah 1635,632 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi ulur C=C *stretching* yang diperkuat dengan adanya tekukan =C-H pada bilangan gelombang 667,369 cm⁻¹.

4.7.4 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Etil Asetat Daun Katuk



Gambar 4.9 Hasil spektra FTIR (d) ekstrak etil asetat daun Katuk

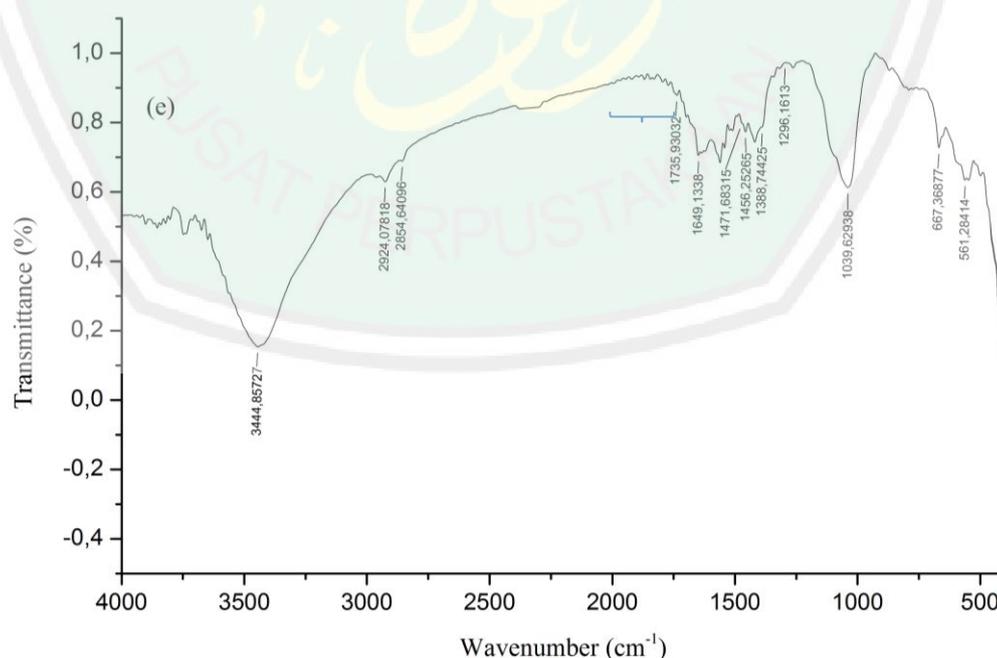
Tabel 4.15 Interpretasi spektra FTIR ekstrak etil asetat daun Katuk

| Ekstrak Etil Asetat | Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) | | Intensitas (Socrates, 1994) | Jenis Vibrasi |
|---------------------|--|--|-----------------------------|---|
| | Socrates (1994) | | | |
| 3446,786 | 3550 – 3250 | | Sedang | O-H (<i>stretch</i>) |
| 2922,149 | 3000 – 2800 | | Sedang | -CH ₃ <i>stretch asym</i> |
| 2854,641 | 2870 – 2840 | | Lemah | -CH ₂ <i>stretch sym</i> |
| 2000 – 1735 | 2000 – 1650 | | Lemah | <i>Overtone</i> aromatik |
| 1651,063 | 1680 – 1600 | | Sedang | C=C (<i>stretch</i>) |
| 1471,683 | 1500 – 1400 | | Lemah | C=C aromatik |
| 1458,181 | 1480 – 1440 | | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1386,815 | 1395 – 1365 | | Sedang | C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>) |
| 1294,232 | 1350 – 1280 | | Lemah | C-N (<i>aromatic amine</i>) |
| 1045,416 | 1140 – 820 | | Sedang | C-O (<i>stretch sym</i>) |
| 667,369 | 995 – 650 | | Sedang | =C-H |
| 543,924 | 600 – 420 | | Lemah | C-H <i>bending (out of plane)</i> |

Hasil spektra FTIR ekstrak etil asetat daun Katuk dapat dilihat pada Gambar 4.10 dan Tabel 4.15 yang menunjukkan bahwa terdapat serapan melebar yang diduga sebagai vibrasi ulur –OH pada bilangan gelombang 3446,786 cm⁻¹

yang diperkuat dengan vibrasi tekuk C-O alkohol pada daerah $1045,416\text{ cm}^{-1}$. Vibrasi pada bilangan gelombang $2922,149$ dan $2854,641\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi C-H alifatik *stretching* untuk gugus metil CH_3 dan metilena CH_2 . Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi C-H *bending* pada bilangan gelombang $1458,181$ dan $1386,815\text{ cm}^{-1}$ pada gugus metil CH_3 dan metilena CH_2 , serta serapan pada bilangan gelombang $543,924\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya serapan C-H *bending* keluar bidang. Serapan gugus fungsi C=C aromatik ditunjukkan pada bilangan gelombang $1471,683\text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat oleh adanya serapan lemah (*overtone*) pada daerah $2000-1735\text{ cm}^{-1}$ yang sangat berguna untuk penentuan letak substitusi pada cincin aromatik. Terdapat serapan C-N aromatik amina pada bilangan gelombang $1294,232\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada daerah $1651,063\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi C=C *stretching* yang diperkuat dengan adanya tekukan =C-H pada bilangan gelombang $667,369\text{ cm}^{-1}$.

4.7.5 Identifikasi Gugus Fungsi Pada Ekstrak Petroleum Eter Daun Katuk



Gambar 4.10 Hasil spektra FTIR (e) ekstrak petroleum eter daun Katuk

Tabel 4.16 Interpretasi spektra FTIR ekstrak petroleum eter daun Katuk

| Bilangan Gelombang (cm^{-1}) | | Intensitas (Socrates, 1994) | Jenis Vibrasi |
|---|-----------------|--------------------------------|---|
| Ekstrak Petroleum Eter | Socrates (1994) | | |
| 3444,857 | 3550 – 3250 | Sedang | O-H (<i>stretch</i>) |
| 2924,078 | 3000 – 2800 | Sedang | -CH ₃ <i>stretch asym</i> |
| 2854,641 | 2870 – 2840 | Lemah | -CH ₂ <i>stretch sym</i> |
| 2000 – 1735 | 2000 – 1650 | Lemah | <i>Overtone</i> aromatik |
| 1649,134 | 1650 – 1580 | Sedang | C=C (<i>stretch</i>) |
| 1471,683 | 1500 – 1400 | Lemah | C=C aromatik |
| 1456,253 | 1480 – 1440 | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1388,744 | 1395 – 1365 | Sedang | C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>) |
| 1296,161 | 1350 – 1280 | Lemah | C-N (<i>aromatic amine</i>) |
| 1039,629 | 1140 – 820 | Sedang | C-O (<i>stretch sym</i>) |
| 667,369 | 995 – 650 | Sedang | =C-H |
| 561,284 | 600 – 420 | Lemah | C-H <i>bending (out of plane)</i> |

Berdasarkan Gambar 4.11 dan Tabel 4.16 spektra FTIR ekstrak petroleum eter daun Katuk menunjukkan bahwa terdapat serapan melebar yang diduga sebagai vibrasi ulur –OH pada bilangan gelombang $3444,857 \text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat dengan vibrasi tekuk C-O alkohol pada bilangan gelombang $1039,629 \text{ cm}^{-1}$. Vibrasi pada bilangan gelombang $2924,078 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya C-H alifatik *stretching* untuk gugus metil CH₃ yang diperkuat dengan C-H *bending* pada bilangan gelombang $1456,253 \text{ cm}^{-1}$. Vibrasi C-H alifatik *stretching* pada bilangan gelombang $2854,641 \text{ cm}^{-1}$ pada gugus metilena CH₂ yang diperkuat dengan vibrasi tekukan C-H pada daerah $1386,815 \text{ cm}^{-1}$ serta serapan pada bilangan gelombang $561,284 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya serapan C-H *bending* keluar bidang. Adanya ikatan C=C aromatik menghasilkan bilangan gelombang $1471,683 \text{ cm}^{-1}$ yang diperkuat oleh serapan lemah (*overtone*) pada daerah $2000\text{-}1735 \text{ cm}^{-1}$ yang berguna untuk penentuan letak substitusi pada cincin aromatik. Adapun serapan C-N aromatik amina terdapat pada bilangan gelombang

1296,161 cm^{-1} . Serapan pada daerah 1649,134 cm^{-1} menunjukkan vibrasi C=C *stretching* yang diperkuat tekukan =C-H pada bilangan gelombang 667,369 cm^{-1} .

Berdasarkan hasil identifikasi tersebut diketahui bahwa ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk diduga mengandung senyawa metabolit sekunder yang beragam. Uji fitokimia ekstrak air daun Katuk menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan steroid. Ekstrak metanol dan etanol menunjukkan adanya senyawa flavonoid, tanin, triterpen dan steroid. Ekstrak etil asetat dan petroleum eter menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dan steroid. Hal ini tidak menutup kemungkinan terdapat senyawa metabolit lain yang terkandung dalam daun Katuk.

Hasil identifikasi tersebut dikuatkan oleh penelitian Fadhly (2015) yang menyatakan bahwa senyawa alkaloid menghasilkan serapan C-N amina (1295,75 cm^{-1}), vibrasi ulur C-O (1087,85 cm^{-1}), gugus C=O (1695,32 cm^{-1}) dan C=C aromatik (1435,64 cm^{-1}). Menurut Mabruroh (2019) senyawa flavonoid daun Murbei menghasilkan serapan gugus fungsi OH (3736,69; 3567,89 dan 3446,14 cm^{-1}) yang diperkuat dengan C-O alkohol (1161,1 dan 1043 cm^{-1}), C-H aromatik (721,29 cm^{-1}), C=C aromatik (1459,03 cm^{-1}), gugus karbonil C=O (1716,5 cm^{-1}), gugus C-H alifatik (2922,04 dan 2851,78 cm^{-1}). Sari, dkk. (2015) menyatakan bahwa senyawa tanin isolat daun Trembesi menghasilkan rentangan O-H (3556,74 dan 3251,98 cm^{-1}), C-H alifatik (2889,37 cm^{-1}) yang diperkuat oleh C-H *bending* (574,79 dan 507,28 cm^{-1}), serta gugus C=O ester (1743,65 cm^{-1}) yang memperkuat dugaan adanya senyawa tanin terhidrolisis.

Astuti, dkk. (2014) menunjukkan bahwa herba Lampasau menghasilkan ikatan rangkap C=C (1606,70 cm^{-1}), vibrasi ulur C-H gugus metil (CH_3) dan

metilena (CH_2) ($2953,02$; $2924,09$ dan $2856,58 \text{ cm}^{-1}$) diperkuat dengan C-H tekuk ($1460,11$ dan $1377,17 \text{ cm}^{-1}$) yang mengindikasikan gugus *gem dimetil* yang merupakan ciri khas senyawa triterpenoid. Gugus $-\text{OH}$ ($3373,50 \text{ cm}^{-1}$) diperkuat dengan vibrasi C-O ($1074,35 \text{ cm}^{-1}$) serta vibrasi gugus C=O lakton ($1730,15 \text{ cm}^{-1}$) yang mengindikasikan triterpenoid dengan kerangka dasar hopan lakton atau glikosida. Mawaddah (2019) menyatakan bahwa senyawa steroid adalah senyawa dengan serapan gugus C=C, OH sekunder dan $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, dimana geminal dimetil ($-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) merupakan serapan khas senyawa steroid dan triterpenoid. Gugus geminal dimetil muncul pada fraksi n-heksana *Hydrilla verticillata* ($1450,972$ dan $1383,523 \text{ cm}^{-1}$) dan isolat B ($1461,072$ dan $1383,282 \text{ cm}^{-1}$).

4.8 Pemanfaatan Tumbuhan Katuk dalam Perspektif Agama Islam

Al-Qur'an merupakan kitab yang diturunkan oleh Allah SWT sebagai petunjuk dan pegangan hidup manusia di dunia dan akhirat. Al-Qur'an memiliki beberapa nama lain, seperti *al-kitab* (kitab, buku); *huda* (petunjuk); *al-furqon* (pembeda antara yang haq dan bathil); *al-rahmah* (rahmat, kebaikan); *al-shifa* (obat penawar); *al-dhikr* (peringatan) serta beberapa nama lainnya. Nama-nama tersebut menunjukkan bahwa Al-Qur'an adalah kitab suci yang membicarakan banyak persoalan. Al-Qur'an sebagai sumber ilmu pengetahuan, dimana ayat-ayatnya senantiasa memerintahkan manusia untuk menuntut ilmu. Hakikat manusia yang tidak dapat terpisah dari kemampuannya dalam mengembangkan ilmu pengetahuan disertai dengan iman menempatkan manusia pada derajat yang tinggi. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Q.S. al-Mujadilah ayat 11.

لَيْتُهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَافْسَحُوا لِيَفْسَحَ اللَّهُ لَكُمْ وَإِذَا قِيلَ
 انشُرُوا فَانشُرُوا لِيَفْعَ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَلْعَمَلُونَ
 خَيْرٌ (١١) [المجادلة: ١١]

Artinya : “Wahai orang-orang yang beriman! Apabila dikatakan kepadamu, “Berilah kelapangan di dalam majelis-majelis,” maka lapangkanlah, niscaya Allah SWT akan memberikan kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan, “Berdirilah kamu,” maka berdirilah, niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman di antarmu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat. Dan Allah maha teliti apa yang kamu kerjakan” (Q.S al-Mujadilah : 11).

Ayat di atas tidak menyebut secara tegas bahwa Allah akan *meninggikan* derajat orang berilmu. Tetapi menegaskan bahwa mereka memiliki derajat-derajat yakni yang lebih tinggi dari yang sekedar beriman. Tidak disebutnya kata *meninggikan* sebagai isyarat bahwa sebenarnya ilmu yang dimilikinya itulah yang berperan besar dalam ketinggian derajat yang diperolehnya, bukan akibat dari faktor di luar ilmu itu (Shihab, 2002).

Kata *alladzina utu al-‘ilm* yang diberi pengetahuan adalah mereka yang beriman dan menghiasi diri mereka dengan pengetahuan. Ini berarti ayat di atas membagi kaum beriman kepada dua kelompok besar, yang pertama sekedar beriman dan beramal saleh, dan yang kedua beriman dan beramal saleh serta memiliki pengetahuan. Derajat kelompok kedua ini menjadi lebih tinggi, bukan saja karena nilai ilmu yang disandangnya, tetapi juga amal dan pengajarannya kepada pihak lain baik secara lisan, atau tulisan maupun dengan keteladanan.

Ilmu yang dimaksud oleh ayat di atas bukan saja ilmu agama, tetapi ilmu apapun yang bermanfaat. Di sisi lain juga menunjukkan bahwa ilmu haruslah menghasilkan *khasyyah* yakni rasa takut dan kagum kepada Allah, yang pada

gilirannya mendorong yang berilmu untuk mengamalkan ilmunya serta memanfaatkannya untuk kepentingan makhluk (Shihab, 2002). Hal ini menunjukkan adanya anjuran kepada manusia yang berilmu untuk senantiasa memiliki rasa ingin tahu yang tinggi terhadap sesuatu. Sehingga setiap fenomena dan masalah yang muncul dapat dipaparkan dan dibuktikan dari berbagai sudut, seperti ilmu pengetahuan maupun integrasinya dengan Al-Qur'an. Hal ini dikarenakan Allah SWT tidak mungkin menciptakan sesuatu yang sia-sia, salah satunya adalah tumbuhan Katuk. Tumbuhan Katuk telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pelancar ASI, sumber antioksidan alami dan lain sebagainya. Sesuai dengan firman Allah SWT Q.S. Ali Imran ayat 191.

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ مِنَّا
مَا خَلَقْت هَذَا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (١٩١) [آل عمران: ١٩١]

Artinya : “(yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau ciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka” (Q.S Ali Imran : 191).

Kata *Rabbana ma khalaqta hadza bathilan* yaitu Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia menunjukkan bahwa ia adalah natijah dan kesimpulan upaya zikir dan pikir. Bisa juga dipahami zikir dan pikir itu mereka lakukan sambil membayangkan dalam benak mereka bahwa alam raya tidak diciptakan Allah SWT sia-sia. Ayat diatas mendahulukan zikir dan pikir karena dengan zikir mengingat Allah SWT dan menyebut-nyebut nama dan keagungan-Nya hati akan menjadi tenang dan dengan ketenangan pikiran akan menjadi cerah, bahkan siap untuk memperoleh limpahan ilham dan bimbingan Ilahi (Shihab,

2002). Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT tidak ada yang sia-sia melainkan memiliki tujuan dan manfaat tertentu tanpa terkecuali tumbuhan Katuk. Tumbuhan Katuk telah dibuktikan dalam penelitian ini mengandung senyawa aktif yang mampu dimanfaatkan sebagai obat. Sesuai dengan hadist yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari :

فقد روى البخاري في صحيحه من حديث أبي هريرة عن النبي أنه قال: "ما أنزل داء إلى أنزل له شفاء"

Artinya : Dikisahkan dari Abu Hurairah RA dari Nabi Muhammad SAW bersabda : "Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit melainkan Allah turunkan padanya pula obat".

Senyawa aktif yang diduga terkandung dalam daun tumbuhan Katuk diantaranya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan steroid. Dalam penelitian ini, senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun Katuk terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Nilai aktivitas antioksidan ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk berturut-turut 1624; 829,8; 329,9; 43,67 dan 75,39 ppm yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat. Hal ini menunjukkan bahwa daun tumbuhan Katuk berpotensi sebagai sumber antioksidan alami yang dapat mencegah aktivitas radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif lainnya. Selain berperan sebagai sumber antioksidan alami, tumbuhan Katuk telah dimanfaatkan masyarakat untuk meningkatkan kerja sistem imun (imunostimulan) (Rauf & Anas, 2016), bahan pengawet alami daging ayam (Hardianto & Hidayanti, 2017), suplemen pakan unggas (Santoso, 2018) dan meningkatkan produksi ASI (Juliastuti, 2019).

Komponen bioaktif daun Katuk dapat berfungsi sebagai antioksidan sekaligus meningkatkan produksi ASI. Selama kehamilan, terjadi perubahan fisiologis pada ibu hamil yang dapat menghasilkan radikal bebas (Tafzi, dkk., 2017). Selama 8 minggu pertama kehamilan, terjadi pelepasan trofoblas pada aliran darah menuju intervillous yang berpotensi pada pembentukan stress oksidatif. Namun plasenta dan janin terlindungi oleh antioksidan seperti glutathione pada selenium peroksidase, reduktase tioredoksin, selenoprotein-P serta tembaga, seng dan mangan superoksida dismutase (Cu/Zn dan Mn SODs). Stress oksidatif di dalam plasenta dapat menyebabkan preeklamsia, hambatan pertumbuhan janin bahkan keguguran. Hal ini karena adanya penurunan perlindungan antioksidan yang menyebabkan kerusakan plasenta lebih lanjut (Mistry & Williams, 2011).

Perubahan fisiologis dan metabolisme ibu hamil pada tahap perkembangan janin, persiapan kelahiran dan persiapan laktasi meningkatkan produksi spesi oksigen reaktif (ROS). ROS dapat dihasilkan oleh enzim khusus seperti oksidase xantin atau NADPH, produk samping metabolisme sel seperti rantai transpor elektron mitokondria maupun dalam aktivitas seluler normal. Superoksida dismutase (SOD), baik Cu/Zn dan Mn SOD akan mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan katalase atau peroksidase seperti glutathione peroksidase pada selenium (GPxs) yang menggunakan glutathione tereduksi (GSH) sebagai donor elektron (Mistry & Williams, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa, daun Katuk dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan berperan penting dalam menjaga metabolisme ibu hamil dan menyusui dari bahaya yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Hal ini juga bermanfaat bagi perkembangan bayi karena ASI yang dikonsumsi mengandung antioksidan penangkal radikal bebas.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Aktivitas antioksidan ekstrak air, metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter daun Katuk berturut-turut 1624; 829,8; 329,9; 43,67 dan 75,39 ppm. Aktivitas antioksidan tertinggi daun Katuk adalah ekstrak etil asetat dengan nilai IC_{50} 43,67 ppm.
2. Hasil identifikasi fitokimia pada ekstrak daun Katuk menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan steroid. Hasil identifikasi menggunakan FTIR menunjukkan adanya serapan gugus fungsi O-H, -CH₃, -CH₂, C=C dan C-N.

5.2 Saran

1. Pemisahan senyawa aktif ekstrak daun Katuk dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) dan identifikasi lebih lanjut dengan instrumentasi LC-MS/MS dan ¹HNMR untuk menghasilkan senyawa yang lebih spesifik.
2. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun Katuk dengan perbandingan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak daun Katuk.
3. Uji aktivitas antioksidan sebelum dan setelah pemisahan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak kasar dan isolat daun Katuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, N. E. 2018. Fotostabilitas Karakteristik Fisik dan Aktivitas Antioksidan Kuersetin dalam Sistem Niosom sebagai Penghantaran Obat Transdermal. *Skripsi*.
- Amrun, H., Umiyah, & Evi, U. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainiti* L) dari Daerah Jember. *Ber.Penel.Hayati*, 45-50.
- Anam, K. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR. *Skripsi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Andarwulan, N., Wijaya, H., & Cahyono, T. 1996. Aktivitas Antioksidan dari Daun Sirih (*Piper betle* L). *Teknologi dan Industri Pangan*, 6-9.
- Anggraeni, D. N. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L Merr) sebagai Alternatif Pembuatan Handsanitizer. *Skripsi*.
- Anggraeni, O. N., Fasya, A. G., Abidin, M., & Hanapi, A. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. *ALCHEMY* Vol. 3 No. 2, 173-188.
- Ardianti, A., & Joni, K. 2014. Ekstraksi Antibakteri dari Daun Beruntuk (*Crescentia cujete* Linn.) menggunakan Metode Ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 2 No. 2, 28-35.
- Arista, M. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Calyptra : Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 1-16.
- Aspan, R. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup (Tim Penyusun Deputi Bidang Pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik, dan Produk Komplemen)*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Astuningsih, C., Frida, N., & Agus, S. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) secara Spektrofotometer UV-Vis dan IR serta Uji Toksisitas Akut Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *JURNAL SAINS DAN KOMUNITAS* Vol. 9 No. 2, ISSN 1693-5683.
- Astuti, M. D., Kuntorini, E. M., & Wisuda, F. P. 2014. Isolasi dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi n-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculatum* Swartz. *Valensi* Vol. 4 No. 1, 20-24.

- Baderos, A. 2017. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Identifikasi Menggunakan LC-MS. *Skripsi*.
- Buanasari, Eden, W. T., & Solichah, A. I. 2017. Extraction of Phenolic Compounds from Petai Leaves (*Parkia speciosa* Hassk.) using Microwave and Ultrasound Assisted Methods. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan* Vol. 6 No. 1, 25-31.
- Bunawan, H., & Bunawan, S. N. 2015. *Sauropus androgynus* (L.) Merr. Induced Bronchiolitis Obliterans : From Botanical Studies to Toxicology. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-7.
- Burke, R.W., Diamondstone, B. I., Velapoidi, R.A. & Menis, O. 1974. Mechanism of The Liebermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol. *CLIN. CHEM* . Vol. 20 No. 7, 794-801.
- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Bandung: Bumi Aksara.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. 2017. Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Product. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocol and Applications. A Review. *Elsevier* , 540-560.
- Cikita, I., Hasibuan, I. H., & Hasibuan, R. 2016. Pemanfaatan Flavonoid Ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) sebagai Antioksidan pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU* Vol. 5 No. 1, 45-51.
- Dai, J., Lin, H., Niu, S., Wu, X., Wu, Y., & Zhang, H. 2015. Total Alkaloids in *Dipsacus asperoides* and Their Effects on Proliferation of Osteosarcoma SaOS-2 Cell Lines and Gene Expression of VEGF. *Biomedical Research* Vol. 26 No. 1, 37-42.
- Day, R., & Underwood, A. 1986. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Desnita, R., Luliana, S., Anastasia, D. S., & Yuswar, M. A. 2018. Antiinflammatory Activity Patch Ethanol Extract of Leaf Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* Vol. 16 No. 1, 1-5.
- Dewi, N. W. R. K., Gunawan, I. W., & Puspawati, N. M., 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Golongan Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Pranajiwa (*Euchresta horsfieldii* Lesch Benn.). *Cakra Kimia*. Vol. 5 No. 1, 26-34.

- Djamil, R., & Zaidan, S. 2016. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr), Euphorbiaceae. *Jurnal Kefarmasian Indonesia* Vol. 14 No. 1, 57-61.
- Effendy. 2010. *Teori VSPER, Kepolaran dan Gaya antar Molekul Edisi 3*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Fadhly, E., Kusriani, D., & Fachriyah, E. 2015. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Daun *Rivina humilis* L. serta Uji Sitotoksik Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. Vol. 18 No. 2, 67-72.
- Fauziah, E. D., Bialangi, N., & Musa, W. J. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif terhadap Mortalitas Kutu Beras dari Ekstrak Etil Asetat Rimpang Jeringau (*Acorus calammus* L.). *Jurnal Entropi* Vol. 12 No. 1, 25-32.
- Fessenden, & Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Firdausi, K. M. 2015. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) terhadap Kadar Enzim Transaminase (ALT dan AST) Hepar Tikus. *Skripsi*.
- Fitriyani, A. 2009. Uji In Vitro Ekstrak Air dan Etanol dari Buah Asam Gelugur, Rimpang Lengkuas dan Kencur sebagai Inhibitor Aktivitas Lipase Pankreas. *Skripsi*.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., & Nuri. 2011. Uji Anti Inflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional* Vol. 16 No. 1, 34-42.
- Gandjar, I., & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gritter, R. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Bandung: ITB Press.
- Hanani, E., Mun'im, A., & Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spons callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* ISSN : 1693:9883.
- Handayani, H., Sriherfyna, F., & Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasi Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 4 No. 1, 262-272.
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.

- Hardianto, B., & Hidaiyanti, R. 2017. Penggunaan Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) sebagai Bahan Pengawet Alami Daging Ayam. *AGRITEPA* Vol. 4 No. 1, 72-83.
- Hardjati, S. 2008. Potensi Daun Katuk sebagai Sumber Zat Pewarna Alami dan Stabilitasnya selama Pengeringan Bubuk dengan Menggunakan Binder Maltodekstrin. *Jurnal Penelitian Saintek* Vol. 13 No. 1, 1-18.
- Hayati, E., Fasyah, A., & Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Alchemy* Vol. 2 No. 1, 193-200.
- Hayati, E., Jannah, A., & Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-anting (*Acalyphaindica* L.). *ALCHEMY* Vol. 7 No. 1, 53-103.
- Hegde, K., & Divya, K. 2015. Evaluation of Anti-stress Activity of Hydro-Alcoholic Extract of *Sauropus Androgynus* Leaves. *Internasional Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* Vol. 6 No. 10, 4375-4380.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hendryani, R., Lutfi, M., & Hawa, L. 2015. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah Kering (*Piper croatum*) dengan Metode Pra-Perlakuan Ultrasonic Assisted Extraction Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis* Vol. 3 No. 2, 33-38.
- Huliselan, Y. M., Runtuwene, M. R., & Wewengkang, D. S. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 155-163.
- Hutabalian, L., Kamu, V., & Runtuwene, M. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan dan Total Fenolik dari Hasil Partisi Petroleum Eter, Etil Asetat dan Air Daun Tiga (*Allophylus cobbe* L.). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* Vol. 7 No. 3, 257-265.
- Iqbal, M. 2016. Uji Aktivitas dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Minyak Bekatul Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa* Glutinosa). *Skripsi*.
- Istiqomah, A., Roihatul, M., & Elok, K. 2015. Anticancer Activity Against Breast Cancer Cell T47D and Identification of Its Compound from Extracts and Fractions of Leaves Bamboo Grass (*Lophaterum gracile* B.). *ALCHEMY* Vol. 4 No. 1.

- Jannah, M. 2018. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Daun Bidara Laut (*Ziziphus mauritiana* L.) terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) melalui Metode MTT. *Skripsi*.
- Jing, Z., Wang, Y., Zhang, X.-Q., Zhang, Q.-W., & Ye, W.-C. 2009. Chemical Constituents from Leaves of *Lophatherum gracile*. *Chim J. Not. Mead* Vol. 7 No. 6, 428-431.
- Jos, B., Pramudono, B., & Aprianto. 2011. Ekstraksi Oleoresin dari Kayu Manis Berbantu Ultrasonik dengan Menggunakan Pelarut Alkohol. *Reaktor* Vol. 13 No. 4, 231-236.
- Juliastuti. 2019. Efektivitas Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) terhadap Kecukupan ASI pada Ibu Menyusui di Puskesmas Kuto Baro Aceh Besar. *Indonesian Journal for Health Sciences* Vol. 3 No. 1, 1-5.
- Katsir, I. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3*. Bogor: Pustaka Imam asy-Syafi'i.
- Kholifah, N. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma Zedoaria* (Berg.) Roscoe) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*.
- Khopkar, S. 2014. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI-Press.
- Khozaimah, S. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Akar Pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br) menggunakan Variasi Pelarut dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Skripsi*.
- Khuzaifah, S. 2014. Karakteristik Absorpsi Ekstrak Krokot (*Portulaca oleracea* L.) sebagai Sanitiser Alami untuk Dye-Sanitized Solar Cell (DSSC). *Skripsi*. Yogyakarta : Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusumowati, I. T., Sudjono, T. A., Suhendi, A., Da'i, M., & Wirawati, R. 2012. Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Empat Tanaman Obat Indonesia (*Piper bettle*, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa bilimbi* dan *Guazuma ulmifolia*). *PHARMACON* Vol. 13 No. 1, 1-5.
- Laili, R. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Euचेuma spinosum*). *Skripsi*.

- Latifah. 2005. Identifikasi Golongan Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga* L. dengan Metode DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL). *Skripsi*.
- Laveena, K., & Chandra, M. 2018. Evaluation Bioactive Compounds, Antioxidant and Antibacterial Properties of Medical Plant *Sauropus androgynus* L. and *Erythrina variegata* L. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* Vol. 11 No. 12, 313-317.
- Lee, K., Padzil, A., Syahida, A., Abdullah, N., Zuhainis, S., Maziah, M., et al. 2011. Evaluation of Anti-Inflammatory, Antioxidant and Anti-Nociceptive Activities of Six Malaysian Medical Plants. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5 No. 23, 5555-5563.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Lenny, S. 2006. Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp. *Jurnal USU*, 24-30.
- Lenny, S., Barus, T., & Sitopu, E. 2010. Isolasi Senyawa Alkaloid dari Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.). *Jurnal Kimia*.
- Lestari, S. 2011. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sidarhombifolia* L.) terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*.
- Lestari, T., & Sidik, Y. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Ekstrak Air Kulit Batang Kelapa Gading (*Cocos nucifera* var. *eburnea*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* Vol. 9 No. 1, 22-27.
- Mabruroh, A. I. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Identifikasinya. *Skripsi*.
- Mabruroh, E. Q., Mursiti, S., & Kusumo, E. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Murbei (*Morus alba* Linn). *Indonesian Journal of Chemical Science* Vol. 8 No. 1, 16-22.
- Madhu, C. S., Manukumar, H. M., & Basavaraju, P. 2014. New-Vista in Finding Antioxidant and Anti-Inflammatory Property of Crude Extract from *Sauropus androgynus* Leaf. *Acta Si. Pol., Technol. Aliment.* Vol 13 No. 4, 375-383.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Al Anshori, J. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 93-100.

- Mahsunah. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi Etil Asetat Mikroalga *Chlorella* sp. *Skripsi*.
- Majid, T. S., & Muchtaridi, M. 2018. Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Farmaka Suplemen* Vol. 16 No. 2, 398-403.
- Mamluatuzzahro', R. 2018. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Kombinasi Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.), Pare (*Momordica charantia*) dan Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*) pada Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*.
- Margarita, H. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bekatul dan Dedak. *Skripsi*.
- Markham, K. 1988. *Technique of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- 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* Vol. 3 No. 1, 26-31
- Masfufah, N. L. 2016. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid dari Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) pada Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*.
- Maulana, E., I. A. R. Astiti A., & Made, A. 2016. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* Linn.). *Jurnal Kimia* Vol. 10 No. 1, 161-168.
- Maulana, M. 2018. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina cristi*. L) berdasarkan Variasi Pelarut. *Skripsi*.
- Mawaddah. 2019. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana Hydrilla verticillata. *Skripsi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Mistry, H. D., & Williams, P. J. 2011. Review Article The Importance of Antioxidant Micronutrients in Pregnancy. *Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-12.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin*, 211-219.
- Mulja, M., & Suharman. 1995. *Analisis Instrumen*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Mulyani, Y. W., Hidayat, D., Isbiyantoro, & Fatimah, Y. 2017. Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) sebagai Antibakteri Terhadap

Propionibacterium acnes dan Staphylococcus epidermidis. *JFL Jurnal Farmasi Lampung* Vol. 6 No. 2, 46-54.

Mulyono. 2012. *Kamus Kimia*. Jakarta: Bumi Aksara.

Murtadlo, Y., Kusriani, D., & Fachriyah, E. 2013. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Chem Info*. Vol. 1 No. 1, 379-385.

Murti, S., Abidin, N. Z., & Yusof, A. 2013. Antioxidant Activity in Crude Petroleum Benzene, Chloroform, Metanol, and Water Extracts of Six Selected Vegetables. *Sains Malaysiana* Vol. 42 No. 9, 1253-1259.

Nahak, G., & Sahu, R. K. 2010. Free Radical Scavenging Activity of Multi-Vitamin Plant (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Researcher* Vol. 2 No. 11, 6-14.

Nakagawa, H., Sato M, & Gatlin III DM. 2007. *Dietary Supplement for The Health and Quality of Cultured Fish*. Trowbridge: Cromwell Press.

Narayanaswamy, N., & Balakrishnan, K. 2011. Evaluation of Some Medicinal Plants for Their Antioxidant Properties. *International Journal of PharmTech Research* Vol. 3 No. 1, 381-385.

Neldawati, Ratnawulan, & Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tumbuhan Obat. *PILLAR OF PHYSICS* Vol. 2, 76-83.

Ningrum, D. W., Kusriani, D., & Fachriyah, E. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Johar (*Senna siamea* Lamk). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* Vol. 20 No. 3, 123-129.

Nishizawa. 2005. Non Reductive Scavenging of 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) by Peroxyradical : A Use Method for Quantitative Analysis Peroxyradical. *Chem Pharmbull* Vol. 53 No. 6, 714-716.

Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. 2016. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian IPA*, 97-103.

Nugrahaningtyas, K., Sabirin, M., & Tutik, D. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Biofarmasi* Vol. 3 No. 1, 32-38.

Nurdianti, L., & Rahmiyani, I. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 50-56.

- Nurdianti, L., & Tuslinah, L. 2017. Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* Vol. 17 No. 1, 87-96.
- Panji, T. 2012. *Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Parwata, I., Wiwik, S., & Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri pada Daun Sirih (*Piper betle*, Linn) secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia* Vol. 3 No. 1, 7-13.
- Patonah, Susilawati, & Riduan, A. 2017. Aktivitas Antiobesitas Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L Merr.) pada Model Mencit Obesitas. *PHARMACY*, 137-152.
- Poedjiadi, A., & Supriyanti, F. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories* Vol. 10 No. 2, 1-4.
- Pramita, D., Harlia, & Sayekti, E. 2013. Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds). *JKK* Vol. 2 No. 3, 142-147.
- Puspitasari, E., & Ningsih, I. Y. 2016. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Varian Gula Pasir menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *PHARMACY* Vol. 13 No. 01, 116-126.
- Rahmah, F. T. 2018. Uji Toksisitas Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi. *Skripsi*.
- Rahmah, R. 2014. Isolasi dan Uji Efektivitas Antimalarial Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting Secara In Vivo pada Mencit Jantan. *Skripsi*.
- Rashati, D., & Eryani, M. C. 2019. Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Sampo Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) dengan Berbagai Variasi Viscosity Agent. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 56-63.
- Rattanasena, P. 2012. Antioxidant and Antibacterial Activities of Vegetables and Fruits Commonly Consumed in Thailand. *Pakistan Journal of Biological Sciences* Vol. 15 No. 18, 877-882.
- Rauf, A., & Anas, D. D. 2016. Efek Immunostimulan Fraksi Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. MERR.) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis

- Makrofag pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *JF FIK UINAM* Vol. 4 No. 1, 9-15.
- Rita, W. 2010. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Jurnal Kimia* Vol. 4 No. 1, 20-26.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Rohmaniyah, M. 2016. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpet Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) menggunakan Metode DPPH serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*.
- Rusdi, N. K., Hikmawanti, N. E., Maifitrianti, Ulfah, Y. S., & Annisa, A. T. 2018. Aktivitas Afrodisiaka Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)* Vol. 5 No. 3, 123-132.
- Sa'adah, L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Skripsi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Sakinah, F. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma longa* L.) dan Rumpet Bambu (*Lophatherum gracile* B.) menggunakan Metode DPPH serta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Skripsi*.
- Salima, F. 2019. Uji Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. *Skripsi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Sanjayasari, D., & Pliliang, W. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgenus* L. Merr) terhadap Larva Udang *Artemia Salina* : Potensi Fitofarmaka pada Ikan. *Berkala Perikanan Terubuk*, 91-100.
- Santoso, U. 2014. *Katuk, Tumbuhan Multi Khasiat*. Bengkulu: Badan Penerbit Pertanian (BPFP) Unib.
- Santoso, U. 2018. Penggunaan Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) sebagai Suplemen Pakan pada Unggas 1. Pengaruhnya terhadap Perfoma Ayam. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* Vol. 13 No. 2, 151-156.
- Sari, D., Wardhani, D., & Prasetyaningrum, A. 2012. Pengujian Kandungan Total Fenol *Kappahycus alvarezzi* dengan Menggunakan Metode Ultrasonik Variasi Suhu dan Waktu. *Prossiding SNST ke-III 2012*, 40-44.

- Sari, O., & Titik, T. 2006. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Fraksi Etil Asetat Rimpang Tumbuhan Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb) Schelecht) (*Zingibaraceae*). *Jurnal Kimia* Vol. 6 No. 1, 219-223.
- Sari, P. P., Rita, W. S., & Puspawati, N. M. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). *Jurnal Kimia* Vol. 9 No. 1, 27-34.
- Sastrawan, I. N., Sangi, M., & Kamu, V. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains*, 111-115.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo, H. 1992. *Spektroskopi Inframerah*. Yogyakarta: Penerbit Liberti.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Sax, D., & Lewis, R. 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Gallier International.
- Septyaningsih, D., Anton A., & Maya P.S. 2010. *Analisis Sensori untuk Industri Pangan dan Agro*. Bogor: IPB Press.
- Setiawandari, & Istiqomah. 2017. Efektivitas Ekstrak *Sauropus androgynus* (Daun Katuk) dan Ekstrak *Moringa oleifera* Lamk (Daun Kelor) terhadap Proses Persalinan, Produksi Kolostrum dan Proses Involusi Uteri Ibu Postpartum. *Embrio, Jurnal Kebidanan* Vol. 9 No. 1, 16-23.
- Shihab, M. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 10 Surah Asy-Syu'ara, Surah An-Naml, Surah Al-Qashash, Surah Al-'Ankabut*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 4 Surah Al-An'am*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al Mishbah : Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 2*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 14*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholihah, M., Ahmad, U., & Budiastira, I. M. 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksidan Kulit Manggis. *JTEP Jurnal Keteknik Pertanian* Vol. 5 No. 2, 161-168.

- Sholikhah, R. M. 2016. Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn.) dengan Metode UPLC-MS. *Skripsi*.
- Shoviyyah. 2019. Uji Aktivitas Antoksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan Metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuca* dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta. *Skripsi*.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA* Vol. 35 No. 1, 77-83
- Silverstein, R., Basler, G., & Morrill, T. 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Singapura: John Willey dan Sons Inc.
- Silverstein, R., Francis, X., & David, J. 1976. *Spectrometric Identification of Organic Compounds Seventh Edition*. Singapura: John Willey dan Sons Inc.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Socrates. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts Second Edition*. New York : John Wiley and Sons Inc.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Bandung : ITB Press.
- Sudarmadji, S., Haryoto, & Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sulistiyani, L. M. 2018. Pemisahan dan Uji Antioksidan Isolat Steroid Hasil KLTP Ekstrak n-Heksana dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* Danau Ranu Grati. *Skripsi*.
- Suriyawati, N. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dan Buah Pare (*Momordica charantina* L.) menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*.
- Suwanti, E., & Kuswati. 2016. Pengaruh Konsumsi Ekstrak Daun Katuk terhadap Kecukupan ASI pada Ibu Menyusui di Klaten. *Jurnal Terpadu Ilmu Kesehatan* Vol. 5 No. 2, 110-237.
- Tafzi, F., Andarwulan, N., Giriwonob, P. E., & Dewid, F. N. A. 2017. Uji Efikasi Ekstrak Metanol Daun Torbangun (*Plectranthus amboinicus*) pada Sel Epitel Kelenjar Susu Mamalia MCF-12A. *JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA* Vol. 15 No. 1, 17-24.

- Thompson, L., & Doraiswamy, L. 1999. Sonochemistry : Science Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research* Vol. 38 No. 4, 1215-1249.
- Titis, M., Fachriyah, E., & Kusriani, D. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tonere) Steenis). *Chem Info* Vol. 1 No. 1, 196-201.
- Towsand, A. 1995. *Encyclopedia Of Analytical Science*. Vol. 2. London: Academic Press Inc.
- Tunnisa, T., Mursiti, S., & Jumaeri. 2018. Isolasi Flavonoid Kulit Buah Durian dan Uji Aktivitasnya sebagai Antirayap. *Indonesian Journal of Chemical Science* Vol. 7 No. 1, 21-27.
- Ulyah, K. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice bran*) dan Pengaruh Terapinya Terhadap Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus. *Skripsi*.
- Wahjuni, S., Puspawati, N. M., & Arista, N. R. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antijamur dari Daun Mimba (*Azadiractha indica* A. Juss.) sebagai Pengendali Jamur *Fusarium* sp. pada Tanaman Buah Naga (*Hylocereus* sp.). *Jurnal Kimia* Vol. 10 No. 2, 197-203.
- Wahyuni, Y. W., Hidayat, D., Isbiyantoro, & Fatimah, Y. 2017. Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus apidermis*. *JFL Jurnal Farmasi Lampung* Vol. 6 No. 2, 46-54.
- Wang, Y., Mei, C., Jing, Z., Xiao-Li, Z., Xiao-Jun, H., Xin, W., et al. 2012. Flavone c-glycosides from the Leaves of *Lophaterum gracile* and Their In Vitro Antiviral Activity. *Jurnal Planta Med* Vol. 7 No. 8, 46-51.
- Wei, L. S., Wee, W., Siong, J. Y., & Syamsumir, D. F. 2011. Characterization of Antimicrobial, Antioxidant, Anticancer Properties and Chemical Composition of *Sauropus androgynus* Stem Extract. *ACTA MEDICA LITUANICA* Vol. 18 No. 1, 12-16.
- Winarno, F., Fardias, D., & Fardias, S. 1973. *Ekstraksi, Kromatografi dan Elektroforesis*. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor .
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarsih, S., Purwantiningrum, D. A., & Wardhani, A. S. 2015. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* secara In Vitro. *Mutiara Medika* Vol. 15 No. 2, 96-103.
- Wongklom, A., & Moonsin, P. 2018. Effect of Drying Methods on Antioxidant Capacity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Phakwan (*Sauropus*

androgynus (L.) Merr.) Powder. *SNRU Journal of Science and Technology* Vol. 10 No. 2, 96-103.

Wonorahardjo, S. 2013. *Pengantar Kimia Analitik Modern : Metode dan Instrumen*. Malang: UM Press.

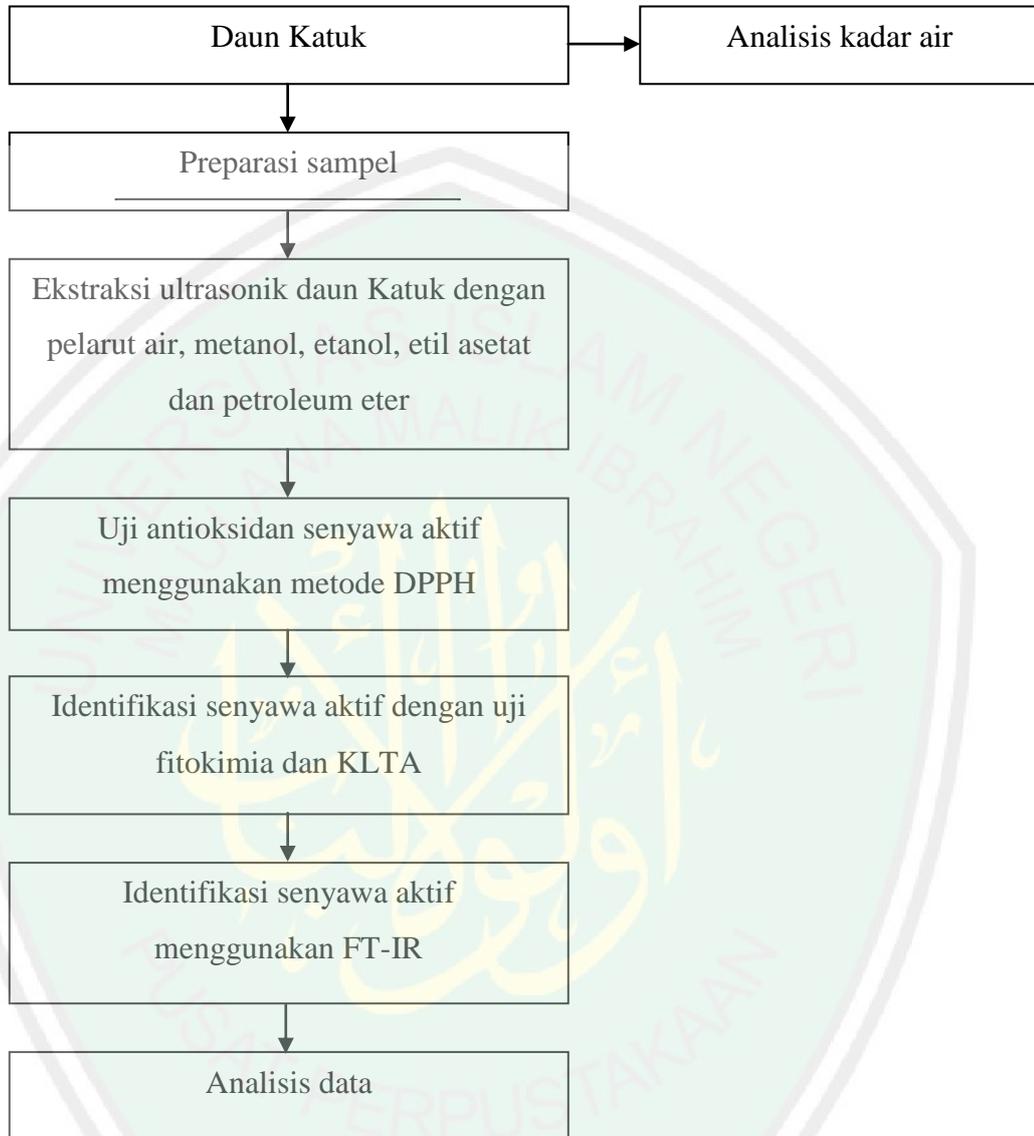
Yuswi, N. 2017. Antioxidant Extraction of Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) with Ultrasonic Bath (Study Type of Solvent and Extraction Time). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 5 No. 1, 71-79.

Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sitohang, H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Jurnal Biologi Sumatera* Vol. 3 No. 1, 7-10.



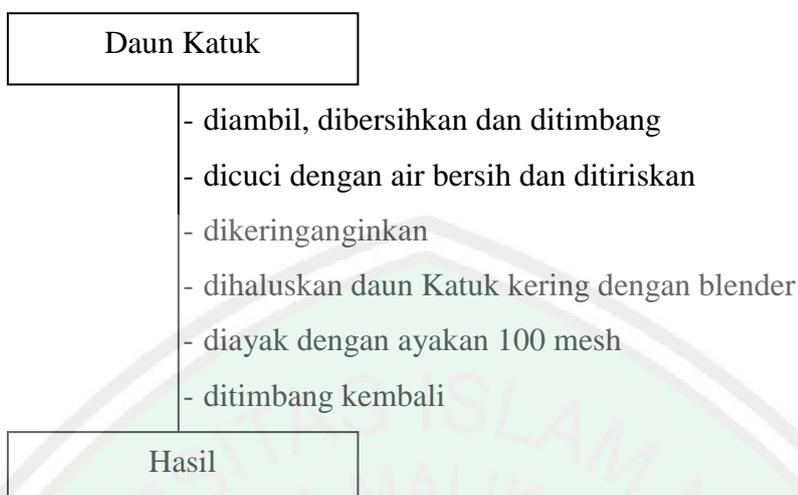
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

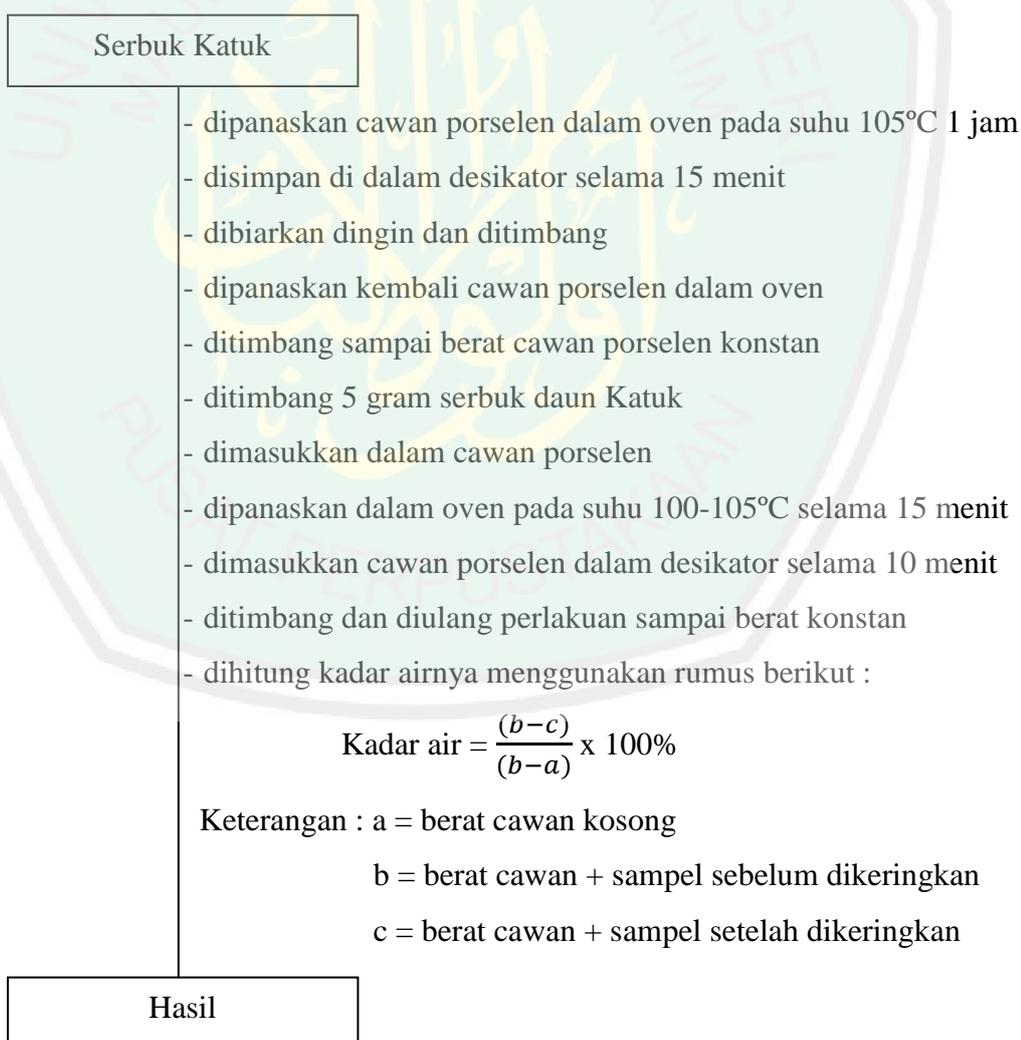


Lampiran 2. Skema Kerja

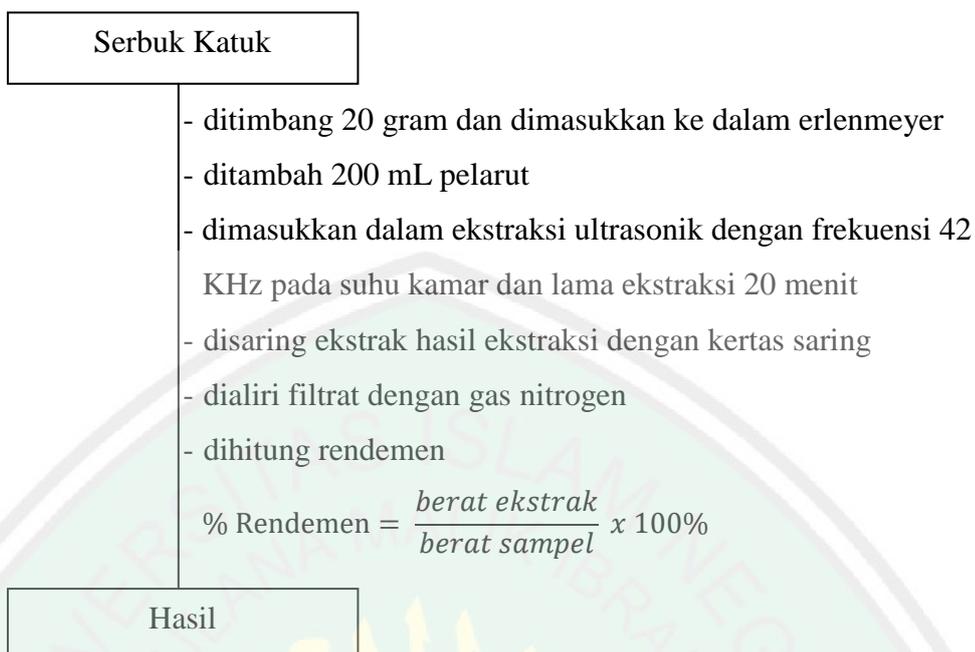
2.1 Preparasi Sampel (Rashati & Eryani, 2019)



2.2 Analisis Kadar Air secara Thermogravimetri



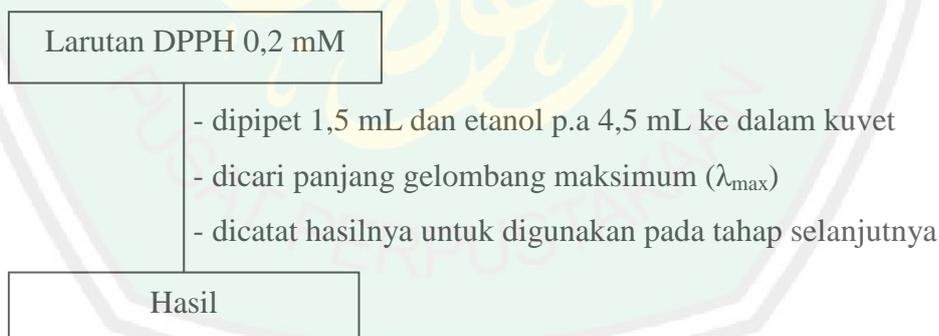
2.3 Ekstraksi Ultrasonik *Sauropus androgynus* L. Merr (Rahmah, 2018)



Catatan : dilakukan perlakuan yang sama menggunakan pelarut metanol, etanol, etil asetat dan petroleum eter

2.4 Uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH (Rohmaniyah, 2016)

2.4.1 Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH



2.4.2 Pengukuran aktivitas antioksidan pada konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm

➤ Absorbansi kontrol

Larutan DPPH 0,2 mM

- diambil 1,5 mL dan ditambahkan 4,5 mL etanol 96%
- dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup dengan tisu
- diinkubasi pada 37°C selama 30 menit dan dimasukkan dalam kuvet
- diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang telah diketahui

Warna coklat

➤ Absorbansi sampel

Ekstrak pekat

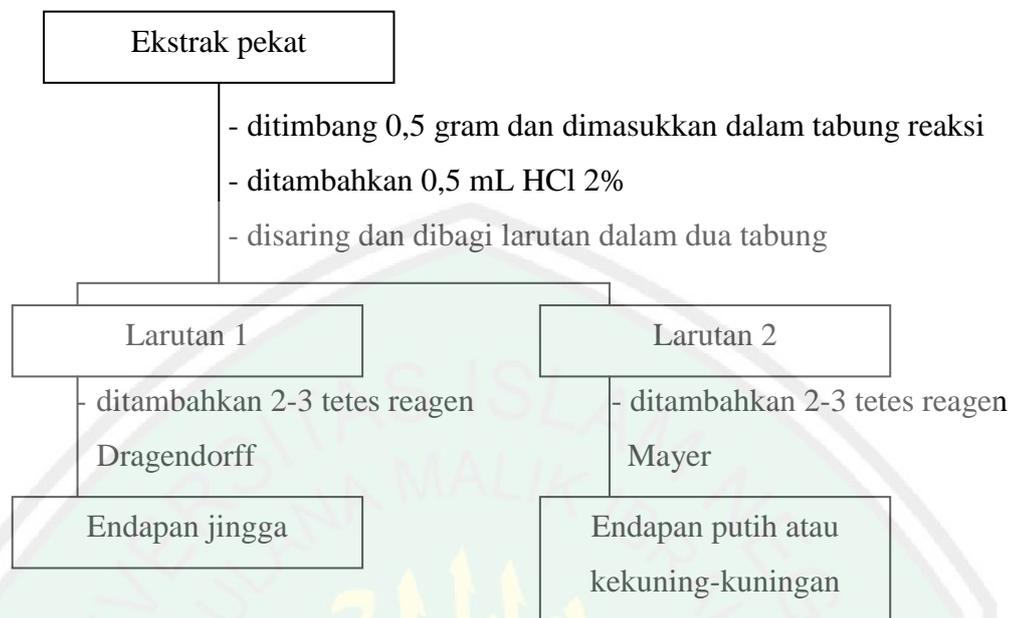
- dibuat larutan dengan konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm
 - diambil 4,5 mL dan ditambahkan 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM dilakukan secara triplo
 - diinkubasi pada 37°C
 - didiamkan selama 30 menit
 - dimasukkan dalam kuvet
 - diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang telah diketahui
 - dihitung nilai aktivitas antioksidannya dengan data absorbansi
- $$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} : \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$
- dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi

Warna coklat

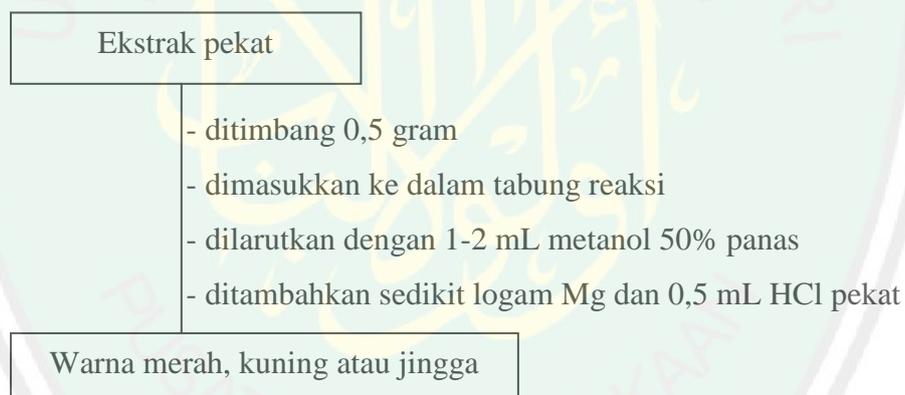
Catatan : dilakukan perlakuan yang sama menggunakan sampel asam askorbat sebagai pembanding

2.5 Uji Fitokimia (Maulana, 2018)

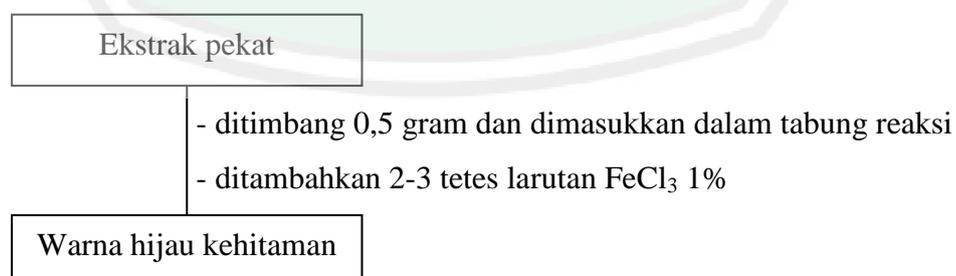
2.5.1 Uji Alkaloid



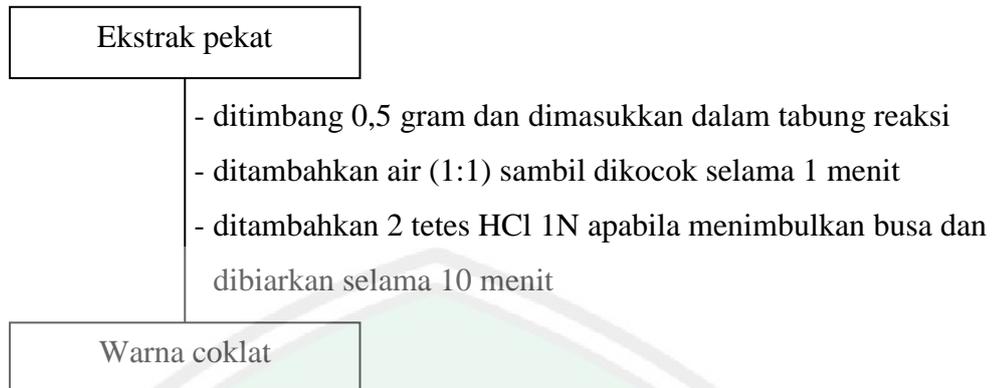
2.5.2 Uji Flavonoid



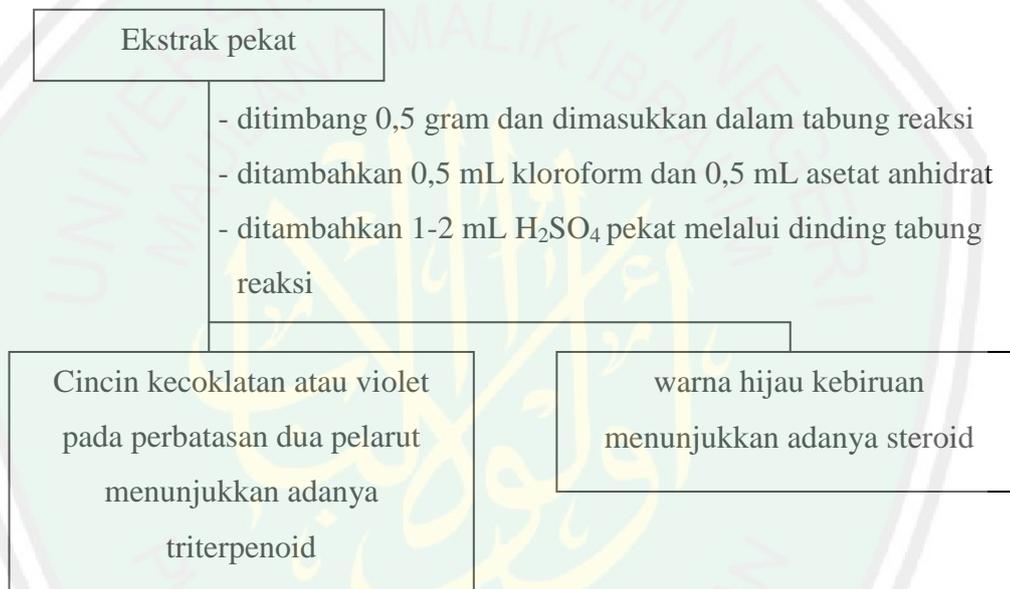
2.5.3 Uji Tanin



2.5.4 Uji Saponin



2.5.5 Uji triterpenoid dan steroid



2.6 Pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik

| | |
|---------------|---|
| Ekstrak pekat | <ul style="list-style-type: none"> - ditimbang 50 mg dan dilarutkan dalam 5 mL pelarut - dipotong plat silika gel F₂₅₄ ukuran 1x10 cm dan diaktivasi - ditotolkan 1 µL (1-10 total) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler dan dikeringkan - dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid - diangkat plat dan dikeringkan - diperiksa permukaan plat dibawah sinar UV 254 dan 366 nm - disemprot dengan reagen Dragendroff dan ditandai noda yang terbentuk pada setiap golongan senyawa - diamati jumlah, bentuk dan nilai Rf dari noda |
| Hasil | |

Tabel 1. Fase gerak dan pendeteksi uji KLT metabolit sekunder

| Golongan Senyawa | Fase Gerak | Pendeteksi | Hasil Warna Noda |
|------------------|---|-----------------------------|---|
| Alkaloid | 1. kloroform : metanol (9:1) 2. kloroform : metanol (2:8) | Pereaksi Dragendroff | Kuning-kemerahan. |
| Flavonoid | 1. n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) 2. metanol : aquades (4:6) | Pereaksi FeCl ₃ | Merah |
| Tanin | 1. n-heksana : etil asetat (19:1) 2. n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) 3. n-heksana : etil asetat (6:4) | Pereaksi FeCl ₃ | Ungu, ungu kehitaman |
| Saponin | 1. kloroform : aseton (4:1) 2. kloroform : metanol : air (3:1:1) | Pereaksi Lieberman-Burchard | Ungu |
| Triterpenoid | 1. kloroform : etanol : etil asetat (9:3:5) 2. n-heksana : etil asetat (6:4) 3. n-heksana : etil asetat (7,5:2,5) | Pereaksi Lieberman-Burchard | Merah-ungu (violet), ungu tua, merah muda |
| Steroid | 1. n-heksana : etil asetat (7:3) 2. n-heksana : etil asetat (15:5) 3. n-heksana : etil asetat (17:3) | Pereaksi Lieberman-Burchard | Hijau, hijau-biru, biru, ungu, merah muda |

2.7 Identifikasi senyawa aktif menggunakan FT-IR

Ekstrak pekat

- dilarutkan dengan sedikit pelarut
- ditetaskan pada pelet KBr
- dikeringkan dan dipindahkan pelet ke dalam *holder*
- dianalisis dengan spektrofotometer FT-IR merk varian tipe FT 1000 pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1}

Warna coklat



Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Larutan metanol 50%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$99,8\% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{50\% \times 10 \text{ mL}}{99,8\%}$$

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

Cara pembuatannya adalah dipipet 5 mL larutan metanol 99,8% di dalam lemari asam menggunakan pipet volume 5 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan

3.2 Larutan HCl 2%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{2\% \times 10 \text{ mL}}{37\%}$$

$$V_1 = 0,54 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet 5 mL larutan HCl pekat 37% di dalam lemari asam menggunakan pipet volume 5 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan.

3.3 Pembuatan reagen dragendorff

- Larutan I = 0,6 gram $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O
- Larutan II = 6 gram KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatan larutan I adalah ditimbang 0,6 gram $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Dipipet 2 mL HCl pekat di dalam lemari asam, kemudian ditambahkan 10 mL aquades dan 2 mL HCl pekat tersebut ke dalam gelas beaker untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 gram KI dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL aquades untuk melarutkan serbuk dengan

dibantu pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H₂O (Maulana, 2018).

3.4 Pembuatan reagen Mayer

- Larutan I = 1,358 gram HgCl₂ dalam 60 mL H₂O
- Larutan II = 5 gram KI dalam 10 mL H₂O

Cara pembuatan larutan I adalah ditimbang 1,358 gram HgCl₂ dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL, kemudian ditambahkan 60 mL H₂O untuk melarutkan serbuk dibantu dengan pengadukan. Larutan II dibuat dengan ditimbang 5 gram KI dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL dan ditambahkan 10 mL H₂O untuk melarutkan serbuk dibantu dengan pengadukan. Kemudian larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, dit andabatkan dengan aquades dan dihomogenkan.

3.5 Pembuatan reagen Lieberman-Burchard

- Asam sulfat pekat = 5 mL
- Anhidrida asetat = 5 mL
- Etanol absolut = 50 mL

Cara pembuatannya adalah dipipet 5 mL asam sulfat pekat dengan pipet volume dalam lemari asam dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Ditambahkan 5 mL anhidrida asetat ke dalam beaker glass yang telah berisi asam sulfat. Kemudian ditambahkan 50 mL etanol absolut ke dalam beaker glass yang telah berisi asam sulfat pekat dan anhidrida asetat. Campuran tersebut dipindahkan dalam botol kaca dan didinginkan dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, dkk, 2001).

3.6 Pembuatan larutan FeCl₃ 1%

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{gr terlarut}}{\text{gr terlarut} + \text{gr pelarut}} \times 100\%$$

$$\text{gr terlarut} + \text{gr pelarut} = \frac{\text{gr terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100\%$$

$$1 \text{ gr} + \text{gr pelarut} = \frac{1 \text{ gr}}{1\%} \times 100\%$$

$$gr \text{ pelarut} = \frac{gr \text{ pelarut}}{BJ \text{ pelarut}} = \frac{99 \text{ gr}}{1 \text{ gr/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1 gram dan dimasukkan dalam beaker glass 100 mL, kemudian ditambahkan dengan 99 mL aquades.

3.7 Pembuatan larutan FeCl_3 1%

$$\begin{aligned} \text{BM FeCl}_3 &= 162,2 \text{ gr/mol} \\ \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4} \\ &= \frac{1\% \times 162,2 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,01\text{L}}{22,4} \\ &= 0,072 \text{ gram} = 72 \text{ mg} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang 72 mg serbuk FeCl_3 dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL, kemudian ditambahkan ± 3 mL aquades untuk melarutkan dibantu dengan pengadukan. Dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan.

3.8 Pembuatan larutan HCl 1N

$$\begin{aligned} \text{BJ HCl pekat} &= 1,19 \text{ gr/mL} = 1190 \text{ gr/L} \\ \text{Konsentrasi} &= 37\% \\ \text{BM HCl} &= 36,42 \text{ gr/mol} \\ n &= 1 \text{ (jumlah mol H}^+) \\ \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\ &= 1 \times \frac{37\% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}} \\ &= \frac{37\% \times 1190 \text{ gr/L}}{36,42 \text{ gr/mol}} \\ &= 12,09 \text{ N} \end{aligned}$$

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$12,09 \text{ N} \cdot V_1 = 1 \text{ N} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ N} \cdot 100 \text{ mL}}{12,09 \text{ N}} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet 8,3 mL HCl pekat 37% dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi 15 mL aquades. Ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan.

3.9 Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 20 mL etanol p.a

Mr DPPH = 394,33 gr/mol

Mol DPPH = 20 mL x 0,2 mM

$$= 20 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000}$$

$$= 0,004 \text{ mmol}$$

Mg DPPH = 0,004 mmol x Mr DPPH

$$= 0,004 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ gr/mol}$$

$$= 1,57 \text{ mg}$$

3.10 Pembuatan konsentrasi larutan ekstrak untuk antioksidan

a. Pembuatan larutan stok 100 ppm ekstrak daun Katuk

ppm = mg/L

Larutan stok 100 ppm = mg/L dalam 25 mL etanol p.a

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{25 \cdot 10^{-3} \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 2,5 \text{ mg}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang 2,5 mg ekstrak kasar daun Katuk dan dilarutkan dengan etanol sedikit demi sedikit ke dalam labu takar 25 mL. Kemudian ditandabatkan dengan etanol dan divortex.

b. Pembuatan larutan ekstrak 25 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 25 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,0025 \text{ L}$$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet 2,5 mL dari larutan stok 100 ppm kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL, kemudian ditandabatkan dengan etanol dan dihomogenkan.

c. Pembuatan larutan ekstrak 20 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 20 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10. 10^{-3} \text{ L} \times 20 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ V_1 &= 0,002 \text{ L} \\ &= 2 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet 2 mL dari larutan stok 100 ppm kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL, kemudian ditandabatkan dengan etanol dan dihomogenkan.

d. Pembuatan larutan ekstrak 15 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 15 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10. 10^{-3} \text{ L} \times 15 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ V_1 &= 0,0015 \text{ L} \\ &= 1,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet 1,5 mL dari larutan stok 100 ppm kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL, kemudian ditandabatkan dengan etanol dan dihomogenkan.

e. Pembuatan larutan ekstrak 10 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 10 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10. 10^{-3} \text{ L} \times 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ V_1 &= 0,001 \text{ L} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet 1 mL dari larutan stok 100 ppm kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL, kemudian ditandabatkan dengan etanol dan dihomogenkan.

f. Pembuatan larutan ekstrak 5 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 5 \text{ ppm} \\V_1 &= \frac{10. 10^{-3} \text{ L} \times 5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\V_1 &= 0,0005 \text{ L} \\&= 0,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet 0,5 mL dari larutan stok 100 ppm kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL, kemudian ditandabatkan dengan etanol dan dihomogenkan.

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Perhitungan

4.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Daun Katuk

4.1.1 Data Berat Cawan Kosong

| Ulangan Cawan | Berat Cawan Kosong (g) | | | | Berat Konstan (g) |
|---------------|------------------------|---------|---------|---------|-------------------|
| | Sebelum dioven | P1 | P2 | P3 | |
| A1 | 55,2117 | 55,2101 | 55,2101 | 55,2101 | 55,2101 |
| A2 | 43,2495 | 43,2495 | 43,2494 | 43,2494 | 43,2494 |
| A3 | 35,1267 | 35,1262 | 35,1262 | 35,1262 | 35,1262 |
| A4 | 39,5856 | 39,5850 | 39,5850 | 39,5849 | 39,5850 |
| A5 | 31,9057 | 31,9049 | 31,9049 | 31,9048 | 31,9049 |

Keterangan : A = Cawan, P = Ulangan

Berat cawan kosong konstan kemudian ditambah 1 g serbuk daun Katuk dan ditimbang kembali sampai berat konstan pada data berat cawan + sampel

4.1.2 Data Berat Cawan + Sampel

| Ulangan Cawan | Berat Cawan Kosong (g) | | | | Berat Konstan (g) |
|---------------|------------------------|---------|---------|---------|-------------------|
| | Sebelum dioven | P1 | P2 | P3 | |
| A1 | 56,2121 | 56,1307 | 56,1308 | 56,1306 | 56,1307 |
| A2 | 44,2507 | 44,1713 | 44,1712 | 44,1713 | 44,1713 |
| A3 | 36,1269 | 36,0518 | 36,0520 | 36,0517 | 36,0518 |
| A4 | 40,5859 | 40,5102 | 40,5101 | 40,5101 | 40,5101 |
| A5 | 32,9052 | 32,8299 | 32,8300 | 32,8300 | 32,8300 |

Keterangan : A = Cawan, P = Ulangan

Data berat konstan yang diperoleh adalah data berat cawan + sampel konstan yang akan dihitung kadar airnya

1. Kadar Air Sampel pada Cawan A1

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan + sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan + sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan + sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\% \\ &= \frac{(56,2121 - 56,1307)\text{g}}{(56,2121 - 55,2101)\text{g}} \times 100\% \\ &= 0,0814/1,002 \times 100\% = 8,12\% \end{aligned}$$

2. Kadar Air Sampel pada Cawan A2

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan + sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan + sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan + sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\% \\ &= \frac{(44,2507 - 44,1713)\text{g}}{(44,2507 - 43,2494)\text{g}} \times 100\% \\ &= 0,0794/1,0013 \times 100\% = 7,93\% \end{aligned}$$

3. Kadar Air Sampel pada Cawan A3

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan + sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan + sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan + sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\%$$

$$= \frac{(36,1269 - 36,0518) \text{ g}}{(36,1269 - 35,1262) \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 0,0751 / 1,0007 \times 100\% = 7,50\%$$

4. Kadar Air Sampel pada Cawan A4

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan} + \text{sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan} + \text{sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan} + \text{sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\%$$

$$= \frac{(40,5859 - 40,5101) \text{ g}}{(40,5859 - 39,5850) \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 0,0758 / 1,0009 \times 100\% = 7,57\%$$

5. Kadar Air Sampel pada Cawan A5

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan} + \text{sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan} + \text{sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan} + \text{sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\%$$

$$= \frac{(32,9052 - 32,8300) \text{ g}}{(32,9052 - 31,9049) \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 0,0752 / 1,0003 \times 100\% = 7,52\%$$

Kadar air rata-rata yang terkandung pada sampel kering daun Katuk adalah **7,7 %**

4.2 Perhitungan Rendemen

4.2.1 Ekstrak Air

$$\text{Berat gelas kosong} = 62,5810 \text{ g}$$

$$\text{Berat gelas kosong} + \text{ekstrak pekat} = 69,4796 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 6,8986 \text{ g}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{6,8986 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 34,49\%$$

4.2.2 Ekstrak Metanol

$$\text{Berat gelas kosong} = 63,1039 \text{ g}$$

$$\text{Berat gelas kosong} + \text{ekstrak pekat} = 66,2515 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 3,1476 \text{ g}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{3,1476 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 15,74\%$$

4.2.3 Ekstrak Etanol

$$\text{Berat gelas kosong} = 63,4760 \text{ g}$$

$$\text{Berat gelas kosong} + \text{ekstrak pekat} = 66,7836 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 3,3076 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{3,3076 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 16,54\%\end{aligned}$$

4.2.4 Ekstrak Etil Asetat

$$\text{Berat gelas kosong} = 124,2410 \text{ g}$$

$$\text{Berat gelas kosong + ekstrak pekat} = 125,1688 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 0,9278 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9278 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,639\%\end{aligned}$$

4.2.4 Ekstrak Petroleum Eter

$$\text{Berat gelas kosong} = 64,6712 \text{ g}$$

$$\text{Berat gelas kosong + ekstrak pekat} = 65,2918 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 0,6206 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,6206 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 3,103\%\end{aligned}$$

4.3 Perhitungan Aktivitas Antioksidan

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

4.3.1 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air

| C (ppm) | Pengulangan ke-1 | | Pengulangan ke-2 | | Pengulangan ke-3 | |
|------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel |
| 5 | 0,5174 | 0,511 | 0,5178 | 0,5018 | 0,4513 | 0,4691 |
| 10 | 0,5175 | 0,5028 | 0,4463 | 0,4339 | 0,4524 | 0,4750 |
| 15 | 0,5184 | 0,5023 | 0,5456 | 0,5319 | 0,4516 | 0,4549 |
| 20 | 0,5179 | 0,5013 | 0,4455 | 0,4276 | 0,4524 | 0,4413 |
| 25 | 0,5171 | 0,4947 | 0,5624 | 0,5434 | 0,4536 | 0,4463 |

Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan ekstrak air daun Katuk pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata dari 2 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

| Konsentrasi (ppm) | Log Konsentrasi (x) | % Aktivitas Antioksidan (y) | | |
|----------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|--------------|
| | | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Rata-rata |
| 5 | 0,699 | 1,234 | 3,090 | 2,162 |
| 10 | 1,000 | 2,841 | 2,778 | 2,810 |
| 15 | 1,176 | 3,106 | 2,576 | 2,841 |
| 20 | 1,301 | 3,205 | 4,018 | 3,612 |
| 25 | 1,398 | 4,332 | 3,378 | 3,855 |

4.3.2 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol

| C (ppm) | Pengulangan ke-1 | | Pengulangan ke-2 | | Pengulangan ke-3 | |
|------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel |
| 5 | 0,3633 | 0,3427 | 0,5179 | 0,5008 | 0,5258 | 0,5790 |
| 10 | 0,3643 | 0,3345 | 0,5199 | 0,4973 | 0,5267 | 0,5743 |
| 15 | 0,3644 | 0,3286 | 0,5196 | 0,4945 | 0,5269 | 0,5618 |
| 20 | 0,3637 | 0,3236 | 0,5184 | 0,4944 | 0,5268 | 0,5526 |
| 25 | 0,3629 | 0,3209 | 0,5170 | 0,4875 | 0,5265 | 0,5409 |

Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun Katuk pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata 2 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

| Konsentrasi (ppm) | Log Konsentrasi (x) | % Aktivitas Antioksidan (y) | | |
|----------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|--------------|
| | | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Rata-rata |
| 5 | 0,699 | 5,670 | 3,302 | 4,486 |
| 10 | 1,000 | 8,180 | 4,347 | 6,263 |
| 15 | 1,176 | 9,824 | 4,831 | 7,327 |
| 20 | 1,301 | 11,026 | 4,630 | 7,828 |
| 25 | 1,398 | 11,573 | 5,706 | 8,639 |

4.3.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol

| C (ppm) | Pengulangan ke-1 | | Pengulangan ke-2 | | Pengulangan ke-3 | |
|------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel |
| 5 | 0,4537 | 0,4491 | 0,5195 | 0,4990 | 0,5625 | 0,5295 |
| 10 | 0,4529 | 0,4408 | 0,5216 | 0,5043 | 0,5632 | 0,5457 |
| 15 | 0,5192 | 0,5049 | 0,4543 | 0,4315 | 0,5616 | 0,5299 |
| 20 | 0,5617 | 0,5325 | 0,4542 | 0,4364 | 0,4542 | 0,4364 |
| 25 | 0,5207 | 0,4821 | 0,4563 | 0,4293 | 0,563 | 0,5304 |

Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Katuk pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata dari 2 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

| Konsentrasi (ppm) | Log Konsentrasi (x) | % Aktivitas Antioksidan (y) | | |
|----------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|--------------|
| | | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Rata-rata |
| 5 | 0,699 | 1,014 | 3,946 | 2,480 |
| 10 | 1,000 | 2,672 | 3,317 | 2,994 |
| 15 | 1,176 | 2,754 | 5,019 | 3,886 |
| 20 | 1,301 | 5,199 | 3,919 | 4,559 |
| 25 | 1,398 | 7,413 | 5,917 | 6,665 |

4.3.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat

| C (ppm) | Pengulangan ke-1 | | Pengulangan ke-2 | | Pengulangan ke-3 | |
|------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel |
| 5 | 0,3549 | 0,3500 | 0,5613 | 0,5478 | 0,5010 | 0,4930 |
| 10 | 0,3566 | 0,3302 | 0,5610 | 0,5376 | 0,5010 | 0,4927 |
| 15 | 0,3554 | 0,3136 | 0,5611 | 0,5251 | 0,5026 | 0,4888 |
| 20 | 0,3561 | 0,2976 | 0,5603 | 0,5205 | 0,5025 | 0,4895 |
| 25 | 0,3546 | 0,2762 | 0,5611 | 0,5074 | 0,5039 | 0,4954 |

Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun Katuk pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata 2 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

| Konsentrasi (ppm) | Log Konsentrasi (x) | % Aktivitas Antioksidan (y) | | |
|----------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| | | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Rata-rata |
| 5 | 0,699 | 1,381 | 2,405 | 1,893 |
| 10 | 1,000 | 7,403 | 4,171 | 5,787 |
| 15 | 1,176 | 11,761 | 6,416 | 9,088 |
| 20 | 1,301 | 16,428 | 7,103 | 11,766 |
| 25 | 1,398 | 22,109 | 9,570 | 15,840 |

4.3.5 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Petroleum Eter

| C (ppm) | Pengulangan ke-1 | | Pengulangan ke-2 | | Pengulangan ke-3 | |
|------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel |
| 5 | 0,3569 | 0,3554 | 0,5139 | 0,5135 | 0,4104 | 0,4533 |
| 10 | 0,3557 | 0,3335 | 0,5137 | 0,4919 | 0,4102 | 0,438 |
| 15 | 0,3549 | 0,3225 | 0,5139 | 0,4874 | 0,4100 | 0,428 |
| 20 | 0,3551 | 0,3106 | 0,5147 | 0,4871 | 0,4102 | 0,3825 |
| 25 | 0,3542 | 0,2996 | 0,5152 | 0,4899 | 0,4109 | 0,3662 |

Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan ekstrak petroleum eter daun Katuk pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata 2 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

| Konsentrasi (ppm) | Log Konsentrasi (x) | % Aktivitas Antioksidan (y) | | |
|----------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| | | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Rata-rata |
| 5 | 0,699 | 0,420 | 0,078 | 0,249 |
| 10 | 1,000 | 6,241 | 4,244 | 5,242 |
| 15 | 1,176 | 9,129 | 5,157 | 7,143 |
| 20 | 1,301 | 12,532 | 5,362 | 8,947 |
| 25 | 1,398 | 15,415 | 4,911 | 10,163 |

4.3.6 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

| C (ppm) | Pengulangan ke-1 | | Pengulangan ke-2 | | Pengulangan ke-3 | |
|------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel | Abs. Kontrol | Abs. Sampel |
| 5 | 0,5181 | 0,0405 | 0,4546 | 0,1700 | 0,4522 | 0,1750 |
| 10 | 0,5158 | 0,0282 | 0,4508 | 0,0176 | 0,4509 | 0,0219 |
| 15 | 0,5134 | 0,0253 | 0,4503 | 0,0158 | 0,4494 | 0,0154 |
| 20 | 0,4491 | 0,0173 | 0,4505 | 0,0164 | 0,5130 | 0,0252 |
| 25 | 0,4489 | 0,0149 | 0,4471 | 0,0175 | 0,5120 | 0,0229 |

Keterangan : C = Konsentrasi

Data absorbansi diatas adalah absorbansi dari 3 pengulangan uji aktivitas antioksidan vitamin C pada waktu uji yang berbeda. % Aktivitas antioksidan merupakan rata-rata dari 2 pengulangan uji aktivitas antioksidan.

| Konsentrasi (ppm) | Log Konsentrasi (x) | % Aktivitas Antioksidan (y) | | |
|----------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| | | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Rata-rata |
| 5 | 0,699 | 92,183 | 62,604 | 77,394 |
| 10 | 1,000 | 94,533 | 96,096 | 95,314 |
| 15 | 1,176 | 95,072 | 96,491 | 95,782 |
| 20 | 1,301 | 96,148 | 96,360 | 96,254 |
| 25 | 1,398 | 96,681 | 96,086 | 96,383 |

- IC₅₀ Ekstrak Air dengan GraphPad Prism 8.4.3

| | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Comparison of Fits | | Can't calculate |
| Null hypothesis | | Different curve for each data set |
| Alternative hypothesis | | One curve for all data sets |
| P value | | |
| Conclusion (alpha = 0.05) | | Models have the same DF |
| Preferred model | | Different curve for each data set |
| F (DFn, DFd) | | |
| Different curve for each data set | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 25,00 | |
| LogIC50 | 3,211 | |
| HillSlope | 0,4128 | |
| IC50 | 1624 | |
| Span | = 25,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 2,478 to 5,414 | |
| HillSlope | 0,1990 to 0,6506 | |
| IC50 | 300,4 to 259529 | |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | 3 | |
| R squared | 0,9308 | |
| Sum of Squares | 0,1282 | |
| Sy.x | 0,2067 | |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 25 | |
| One curve for all data sets | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 25,00 | |
| LogIC50 | 3,211 | 3,211 |
| HillSlope | 0,4128 | 0,4128 |
| IC50 | 1624 | 1624 |
| Span | = 25,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 2,478 to 5,414 | 2,478 to 5,414 |
| HillSlope | 0,1990 to 0,6506 | 0,1990 to 0,6506 |
| IC50 | 300,4 to 259529 | 300,4 to 259529 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R squared | 0,9308 | 0,9308 |
| Sum of Squares | 0,1282 | 0,1282 |
| Sy.x | | 0,2067 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 25 | |
| LogIC50 | LogIC50 is shared | |
| HillSlope | HillSlope is shared | |
| Number of points | | |
| # of X values | 5 | |
| # Y values analyzed | 5 | |

- **IC₅₀ Ekstrak Metanol dengan GraphPad Prism 8.4.3**

| | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Comparison of Fits | | Can't calculate |
| Null hypothesis | | Different curve for each data set |
| Alternative hypothesis | | One curve for all data sets |
| P value | | |
| Conclusion (alpha = 0.05) | | Models have the same DF |
| Preferred model | | Different curve for each data set |
| F (DFn, DFd) | | |
| Different curve for each data set | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 2,919 | |
| HillSlope | 0,4460 | |
| IC50 | 829,8 | |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 2,630 to 3,335 | |
| HillSlope | 0,3601 to 0,5354 | |
| IC50 | 426,9 to 2164 | |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | 3 | |
| R squared | 0,9904 | |
| Sum of Squares | 0,09881 | |
| Sy.x | 0,1815 | |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| One curve for all data sets | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 2,919 | 2,919 |
| HillSlope | 0,4460 | 0,4460 |
| IC50 | 829,8 | 829,8 |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 2,630 to 3,335 | 2,630 to 3,335 |
| HillSlope | 0,3601 to 0,5354 | 0,3601 to 0,5354 |
| IC50 | 426,9 to 2164 | 426,9 to 2164 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R squared | 0,9904 | 0,9904 |
| Sum of Squares | 0,09881 | 0,09881 |
| Sy.x | | 0,1815 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| LogIC50 | LogIC50 is shared | |
| HillSlope | HillSlope is shared | |
| Number of points | | |
| # of X values | 5 | |
| # Y values analyzed | 5 | |

- IC₅₀ Ekstrak Etanol dengan GraphPad Prism 8.4.3

| | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Comparison of Fits | | Can't calculate |
| Null hypothesis | | Different curve for each data set |
| Alternative hypothesis | | One curve for all data sets |
| P value | | |
| Conclusion (alpha = 0.05) | | Models have the same DF |
| Preferred model | | Different curve for each data set |
| F (DFn, DFd) | | |
| Different curve for each data set | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 2,518 | |
| HillSlope | 0,7715 | |
| IC50 | 329,9 | |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 1,887 to 5,703 | |
| HillSlope | 0,2272 to 1,591 | |
| IC50 | 77,05 to 504950 | |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | 3 | |
| R squared | 0,8819 | |
| Sum of Squares | 1,261 | |
| Sy.x | 0,6484 | |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| One curve for all data sets | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 2,518 | 2,518 |
| HillSlope | 0,7715 | 0,7715 |
| IC50 | 329,9 | 329,9 |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 1,887 to 5,703 | 1,887 to 5,703 |
| HillSlope | 0,2272 to 1,591 | 0,2272 to 1,591 |
| IC50 | 77,05 to 504950 | 77,05 to 504950 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R squared | 0,8819 | 0,8819 |
| Sum of Squares | 1,261 | 1,261 |
| Sy.x | | 0,6484 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| LogIC50 | LogIC50 is shared | |
| HillSlope | HillSlope is shared | |
| Number of points | | |
| # of X values | 5 | |
| # Y values analyzed | 5 | |

- **IC₅₀ Ekstrak Etil Asetat dengan GraphPad Prism 8.4.3**

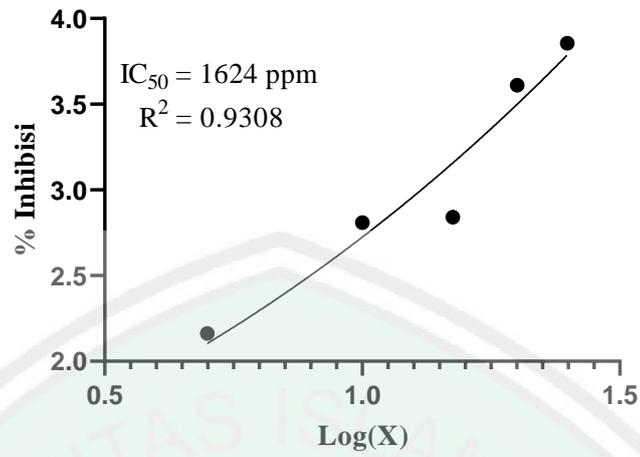
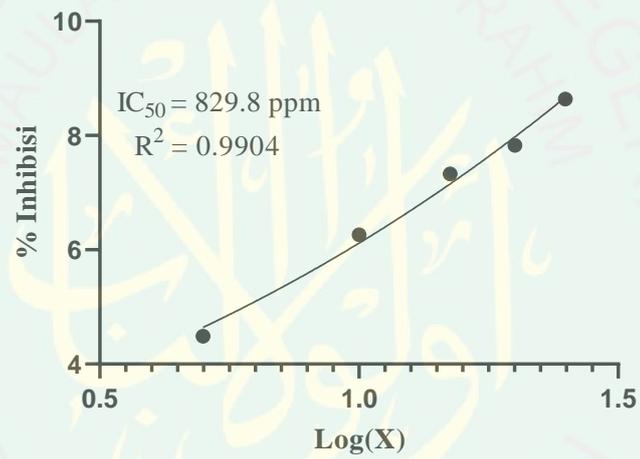
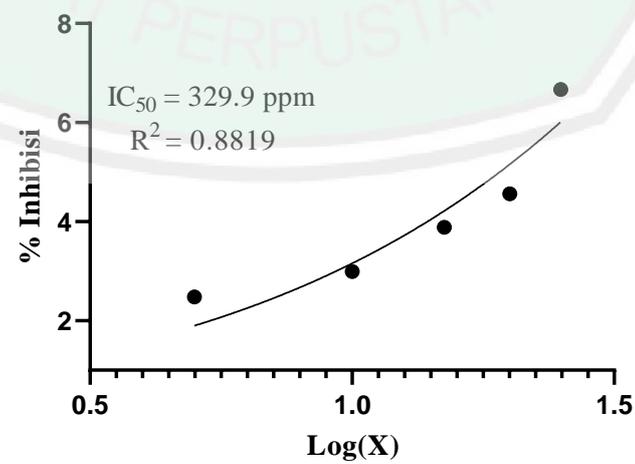
| | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Comparison of Fits | | Can't calculate |
| Null hypothesis | | Different curve for each data set |
| Alternative hypothesis | | One curve for all data sets |
| P value | | |
| Conclusion (alpha = 0.05) | | Models have the same DF |
| Preferred model | | Different curve for each data set |
| F (DFn, DFd) | | |
| Different curve for each data set | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 1,640 | |
| HillSlope | 1,427 | |
| IC50 | 43,67 | |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 1,576 to 1,727 | |
| HillSlope | 1,171 to 1,721 | |
| IC50 | 37,70 to 53,30 | |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | 3 | |
| R squared | 0,9943 | |
| Sum of Squares | 0,6537 | |
| Sy.x | 0,4668 | |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| One curve for all data sets | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 1,640 | 1,640 |
| HillSlope | 1,427 | 1,427 |
| IC50 | 43,67 | 43,67 |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 1,576 to 1,727 | 1,576 to 1,727 |
| HillSlope | 1,171 to 1,721 | 1,171 to 1,721 |
| IC50 | 37,70 to 53,30 | 37,70 to 53,30 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R squared | 0,9943 | 0,9943 |
| Sum of Squares | 0,6537 | 0,6537 |
| Sy.x | | 0,4668 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| LogIC50 | LogIC50 is shared | |
| HillSlope | HillSlope is shared | |
| Number of points | | |
| # of X values | 5 | |
| # Y values analyzed | 5 | |

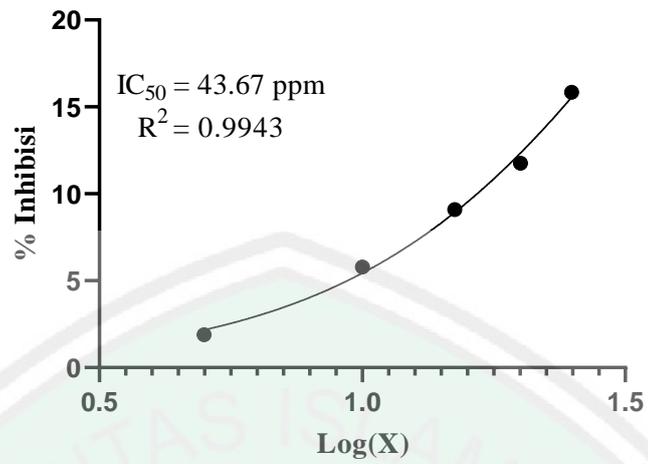
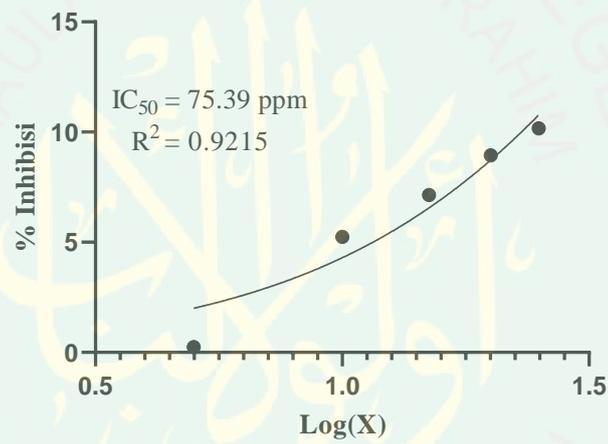
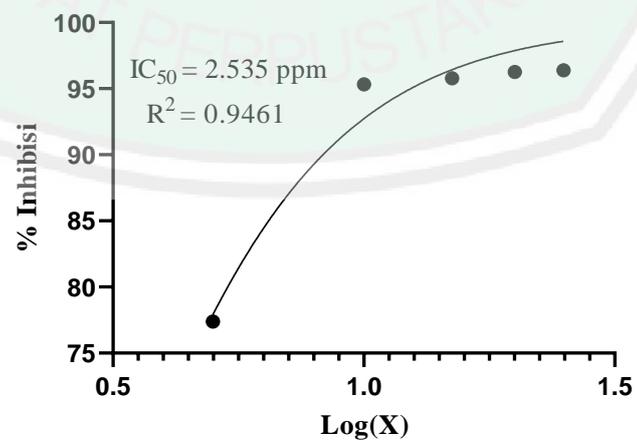
- **IC₅₀ Ekstrak Petroleum Eter dengan GraphPad Prism 8.4.3**

| | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Comparison of Fits | | Can't calculate |
| Null hypothesis | | Different curve for each data set |
| Alternative hypothesis | | One curve for all data sets |
| P value | | |
| Conclusion (alpha = 0.05) | | Models have the same DF |
| Preferred model | | Different curve for each data set |
| F (DFn, DFd) | | |
| Different curve for each data set | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 1,877 | |
| HillSlope | 1,170 | |
| IC50 | 75,39 | |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 1,605 to 2,817 | |
| HillSlope | 0,4872 to 2,209 | |
| IC50 | 40,26 to 655,9 | |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | 3 | |
| R squared | 0,9215 | |
| Sum of Squares | 4,735 | |
| Sy.x | 1,256 | |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| One curve for all data sets | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 50,00 | |
| LogIC50 | 1,877 | 1,877 |
| HillSlope | 1,170 | 1,170 |
| IC50 | 75,39 | 75,39 |
| Span | = 50,00 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | 1,605 to 2,817 | 1,605 to 2,817 |
| HillSlope | 0,4872 to 2,209 | 0,4872 to 2,209 |
| IC50 | 40,26 to 655,9 | 40,26 to 655,9 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R squared | 0,9215 | 0,9215 |
| Sum of Squares | 4,735 | 4,735 |
| Sy.x | | 1,256 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 50 | |
| LogIC50 | LogIC50 is shared | |
| HillSlope | HillSlope is shared | |
| Number of points | | |
| # of X values | 5 | |
| # Y values analyzed | 5 | |

- IC₅₀ Vitamin C dengan GraphPad Prism 8.4.3

| | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Comparison of Fits | | Can't calculate |
| Null hypothesis | | Different curve for each data set |
| Alternative hypothesis | | One curve for all data sets |
| P value | | |
| Conclusion (alpha = 0.05) | | Models have the same DF |
| Preferred model | | Different curve for each data set |
| F (DFn, DFd) | | |
| Different curve for each data set | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 100,0 | |
| LogIC50 | 0,4040 | |
| HillSlope | 1,855 | |
| IC50 | 2,535 | |
| Span | = 100,0 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | -0,03964 to 0,6262 | |
| HillSlope | 0,9416 to 7,293 | |
| IC50 | 0,9128 to 4,229 | |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | 3 | |
| R squared | 0,9461 | |
| Sum of Squares | 14,87 | |
| Sy.x | 2,226 | |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 100 | |
| One curve for all data sets | | |
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0,000 | |
| Top | = 100,0 | |
| LogIC50 | 0,4040 | 0,4040 |
| HillSlope | 1,855 | 1,855 |
| IC50 | 2,535 | 2,535 |
| Span | = 100,0 | |
| 95% CI (profile likelihood) | | |
| LogIC50 | -0,03964 to 0,6262 | -0,03964 to 0,6262 |
| HillSlope | 0,9416 to 7,293 | 0,9416 to 7,293 |
| IC50 | 0,9128 to 4,229 | 0,9128 to 4,229 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R squared | 0,9461 | 0,9461 |
| Sum of Squares | 14,87 | 14,87 |
| Sy.x | | 2,226 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 100 | |
| LogIC50 | LogIC50 is shared | |
| HillSlope | HillSlope is shared | |
| Number of points | | |
| # of X values | 5 | |
| # Y values analyzed | 5 | |

IC₅₀ Ekstrak Air**IC₅₀ Ekstrak Metanol****IC₅₀ Ekstrak Etanol**

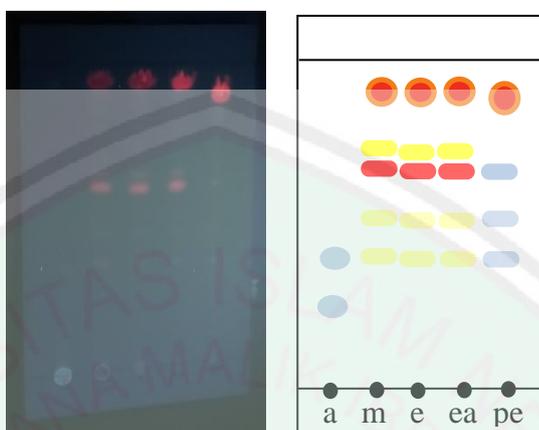
IC₅₀ Ekstrak Etil Asetat**IC₅₀ Ekstrak Petroleum Eter****IC₅₀ Asam Askorbat (Vitamin C)**

4.4 Identifikasi dan Perhitungan Nilai Rf KLTA

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

4.4.1 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Alkaloid

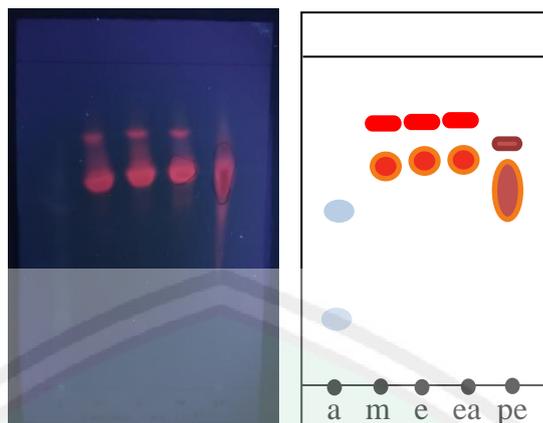
- Hasil KLTA Senyawa Alkaloid Eluen Kloroform : metanol (9:1)



Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen kloroform : metanol (9:1).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | 1,2 | 8 | 0,15 | Biru pudar | - |
| | 2,7 | 8 | 0,34 | Biru pudar | - |
| Ekstrak Metanol | 2,7 | 8 | 0,34 | Kuning pudar | - |
| | 3,5 | 8 | 0,44 | Kuning pudar | - |
| | 4,7 | 8 | 0,59 | Merah | - |
| | 5 | 8 | 0,63 | Kuning | - |
| | 7,4 | 8 | 0,93 | Merah kekuningan | Alkaloid |
| Ekstrak Etanol | 2,6 | 8 | 0,33 | Kuning pudar | - |
| | 3,4 | 8 | 0,43 | Kuning pudar | - |
| | 4,6 | 8 | 0,58 | Merah | - |
| | 4,9 | 8 | 0,61 | Kuning | - |
| | 7,3 | 8 | 0,91 | Merah kekuningan | Alkaloid |
| Ekstrak Etil Asetat | 2,6 | 8 | 0,33 | Kuning pudar | - |
| | 3,4 | 8 | 0,43 | Kuning pudar | - |
| | 4,6 | 8 | 0,58 | Merah | - |
| | 4,9 | 8 | 0,61 | Kuning | - |
| | 7,3 | 8 | 0,91 | Kuning kemerahan | Alkaloid |
| Ekstrak Petroleum Eter | 2,6 | 8 | 0,33 | Biru pudar | - |
| | 3,4 | 8 | 0,43 | Biru pudar | - |
| | 4,6 | 8 | 0,58 | Biru | - |
| | 6,9 | 8 | 0,86 | Kuning kemerahan | Alkaloid |

- Hasil KLTA Senyawa Alkaloid Eluen Kloroform : metanol (2:8)

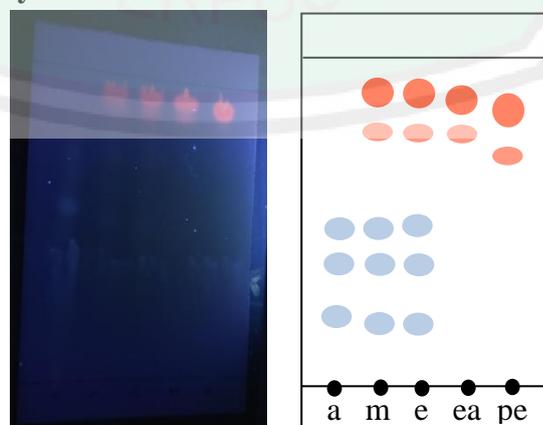


Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen kloroform : metanol (2:8).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | 1,8 | 8 | 0,23 | Biru pudar | - |
| | 4,5 | 8 | 0,56 | Biru pudar | - |
| Ekstrak Metanol | 5,1 | 8 | 0,64 | Merah kecoklatan | Alkaloid |
| | 6,1 | 8 | 0,76 | Merah | - |
| Ekstrak Etanol | 5,3 | 8 | 0,66 | Merah kecoklatan | Alkaloid |
| | 6,3 | 8 | 0,79 | Merah | - |
| Ekstrak Etil Asetat | 5,4 | 8 | 0,68 | Merah kecoklatan | Alkaloid |
| | 6,3 | 8 | 0,79 | Merah | - |
| Ekstrak Petroleum Eter | 5,2 | 8 | 0,65 | Merah kehitaman | Alkaloid |
| | 5,9 | 8 | 0,74 | Coklat | - |

4.4.2 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Flavonoid

- Hasil KLTA Senyawa Flavonoid Eluen n-butanol : asam asetat : air(4:1:5)



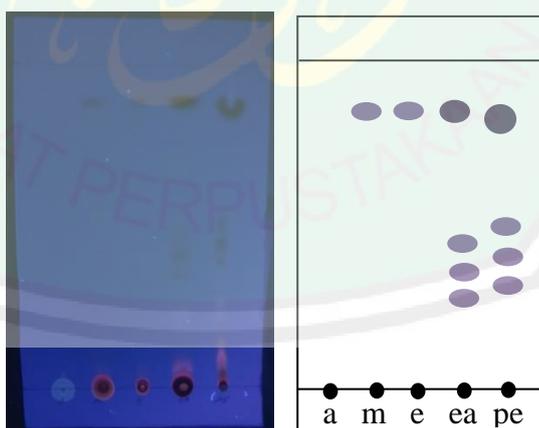
Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter

Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa flavonoid ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | 4,2 | 7,9 | 0,53 | Biru | - |
| | 4,9 | 7,9 | 0,62 | Biru | - |
| | 5,6 | 7,9 | 0,71 | Biru | - |
| Ekstrak Metanol | 3,9 | 7,9 | 0,49 | Biru | - |
| | 4,8 | 7,9 | 0,61 | Biru | - |
| | 5,6 | 7,9 | 0,71 | Biru | - |
| | 7 | 7,9 | 0,89 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 7,4 | 7,9 | 0,94 | Jingga | Flavonoid |
| Ekstrak Etanol | 3,9 | 7,9 | 0,49 | Biru | - |
| | 4,8 | 7,9 | 0,61 | Biru | - |
| | 5,7 | 7,9 | 0,72 | Biru | - |
| | 7 | 7,9 | 0,89 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 7,4 | 7,9 | 0,94 | Jingga | Flavonoid |
| Ekstrak Etil Asetat | 7 | 7,9 | 0,89 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 7,3 | 7,9 | 0,92 | Jingga | Flavonoid |
| Ekstrak Petroleum Eter | 6,7 | 7,9 | 0,85 | Jingga pudar | Flavonoid |
| | 7,2 | 7,9 | 0,91 | Jingga | Flavonoid |

4.4.3 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Tanin

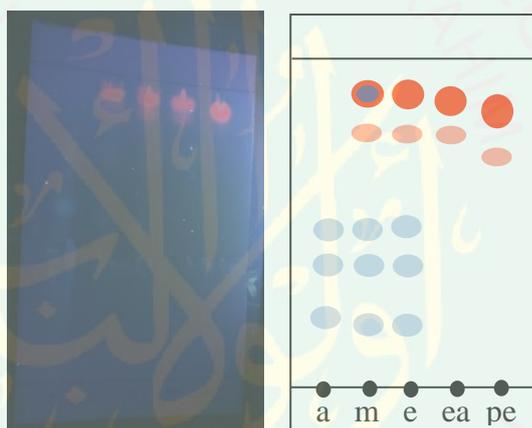
- Hasil KLTA Senyawa Tanin Eluen n-Heksana : etil asetat (19:1)



Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa tanin ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen n-Heksana : etil asetat (19:1).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | - | - | - | - | - |
| Ekstrak Metanol | 7,1 | 8 | 0,89 | Ungu kehitaman | Tanin |
| Ekstrak Etanol | 7,1 | 8 | 0,89 | Ungu kehitaman | Tanin |
| Ekstrak Etil Asetat | 2,8 | 8 | 0,35 | Ungu | Tanin |
| | 3,3 | 8 | 0,41 | Ungu | Tanin |
| | 3,8 | 8 | 0,48 | Ungu | Tanin |
| | 7,1 | 8 | 0,89 | Ungu kehitaman | Tanin |
| Ekstrak Petroleum Eter | 3,1 | 8 | 0,39 | Ungu | Tanin |
| | 3,6 | 8 | 0,45 | Ungu | Tanin |
| | 4,1 | 8 | 0,51 | Ungu | Tanin |
| | 6,8 | 8 | 0,85 | Ungu kehitaman | Tanin |

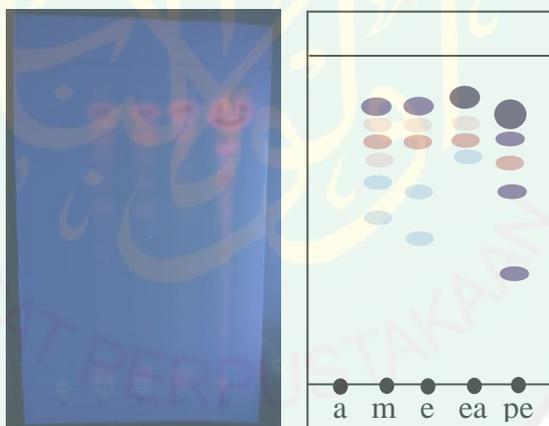
- Hasil KLTA Senyawa Tanin Eluen n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5)



Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
 Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa tanin ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | 4,2 | 7,9 | 0,53 | Biru | - |
| | 4,9 | 7,9 | 0,62 | Biru | - |
| | 5,6 | 7,9 | 0,71 | Biru | - |
| Ekstrak Metanol | 3,9 | 7,9 | 0,49 | Biru | - |
| | 4,8 | 7,9 | 0,61 | Biru | - |
| | 5,6 | 7,9 | 0,71 | Biru | - |
| | 7 | 7,9 | 0,89 | Jingga pudar | - |
| | 7,4 | 7,9 | 0,94 | Jingga kehitaman | Tanin |
| Ekstrak Etanol | 3,9 | 7,9 | 0,49 | Biru | - |
| | 4,8 | 7,9 | 0,61 | Biru | - |
| | 5,7 | 7,9 | 0,72 | Biru | - |
| | 7 | 7,9 | 0,89 | Jingga pudar | - |
| | 7,4 | 7,9 | 0,94 | Jingga | - |
| Ekstrak Etil Asetat | 7 | 7,9 | 0,89 | Jingga pudar | - |
| | 7,3 | 7,9 | 0,92 | Jingga | - |
| Ekstrak Petroleum Eter | 6,7 | 7,9 | 0,85 | Jingga pudar | - |
| | 7,2 | 7,9 | 0,91 | Jingga | - |

- Hasil KLTA Senyawa Tanin Eluen n-Heksana : etil asetat (6:4)

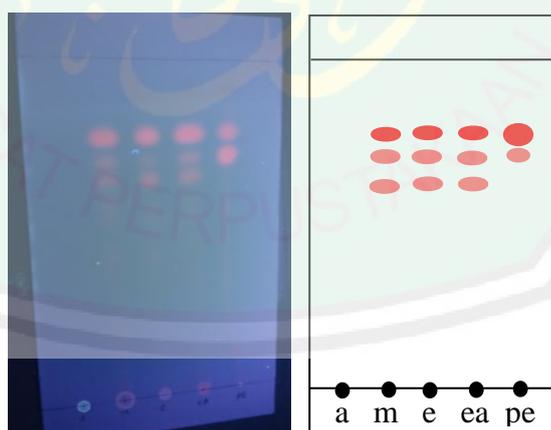


Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
 Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa tanin ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen n-Heksana : etil asetat (6:4).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | - | - | - | - | - |
| Ekstrak Metanol | 4,4 | 7,9 | 0,56 | Biru pudar | - |
| | 5,1 | 7,9 | 0,65 | Biru pudar | - |
| | 5,7 | 7,9 | 0,72 | Merah muda pudar | - |
| | 6,1 | 7,9 | 0,77 | Merah muda | - |
| | 6,5 | 7,9 | 0,82 | Merah muda pudar | - |
| Ekstrak Etanol | 6,8 | 7,9 | 0,86 | Ungu kemerahan | Tanin |
| | 4,3 | 7,9 | 0,54 | Biru pudar | - |
| | 4,9 | 7,9 | 0,62 | Biru pudar | - |
| | 6,1 | 7,9 | 0,77 | Merah muda | - |
| | 6,5 | 7,9 | 0,82 | Merah muda pudar | - |
| Ekstrak Etil Asetat | 6,8 | 7,9 | 0,86 | Ungu kemerahan | Tanin |
| | 6,2 | 7,9 | 0,78 | Biru pudar | - |
| | 6,6 | 7,9 | 0,84 | Merah muda | - |
| Ekstrak Petroleum Eter | 6,9 | 7,9 | 0,87 | Merah muda pudar | - |
| | 7,5 | 7,9 | 0,95 | Ungu kehitaman | Tanin |
| | 3,3 | 7,9 | 0,42 | Ungu kehitaman | Tanin |
| Ekstrak Petroleum Eter | 5,2 | 7,9 | 0,66 | Ungu kehitaman | Tanin |
| | 5,9 | 7,9 | 0,75 | Merah muda | - |
| | 6,2 | 7,9 | 0,78 | Ungu pudar | Tanin |
| Ekstrak Petroleum Eter | 6,5 | 7,9 | 0,82 | Ungu kehitaman | Tanin |

4.4.4 Identifikasi dan Nilai Rf KLTA Senyawa Triterpenoid dan Steroid

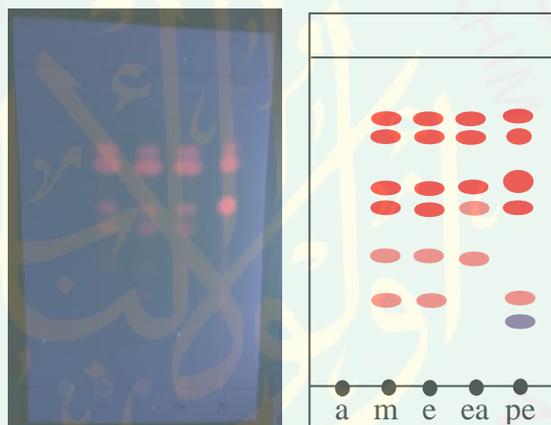
- Hasil KLTA Senyawa Triterpenoid Eluen n-Heksana : etil asetat (7,5:2,5)



Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen n-Heksana : etil asetat (7,5:2,5).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | - | - | - | - | - |
| Ekstrak Metanol | 5,3 | 8 | 0,66 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 5,8 | 8 | 0,73 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 6,4 | 8 | 0,80 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Etanol | 5,4 | 8 | 0,68 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 5,8 | 8 | 0,73 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 6,4 | 8 | 0,80 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Etil Asetat | 5,4 | 8 | 0,68 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 5,8 | 8 | 0,73 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 6,4 | 8 | 0,80 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Petroleum Eter | 5,9 | 8 | 0,74 | Merah | Triterpenoid |
| | 6,4 | 8 | 0,80 | Merah | Triterpenoid |

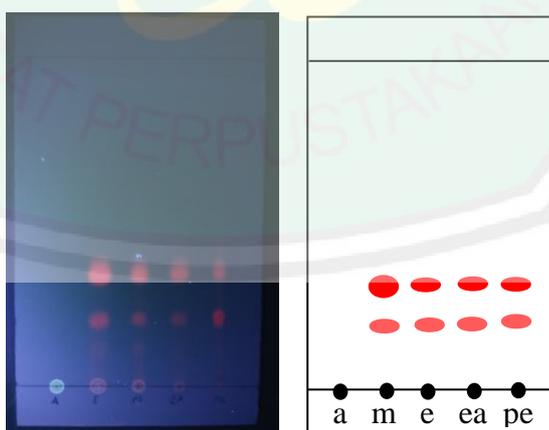
- Hasil KLTA Senyawa Triterpenoid Eluen n-Heksana : etil asetat (15:5)



Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
 Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen n-Heksana : etil asetat (15:5).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | - | - | - | - | - |
| Ekstrak Metanol | 2,3 | 7,9 | 0,29 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 3,1 | 7,9 | 0,39 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 4,1 | 7,9 | 0,52 | Merah | Triterpenoid |
| | 4,6 | 7,9 | 0,58 | Merah | Triterpenoid |
| | 5,6 | 7,9 | 0,71 | Merah | Triterpenoid |
| | 6 | 7,9 | 0,76 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Etanol | 2,3 | 7,9 | 0,29 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 3,1 | 7,9 | 0,39 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 4 | 7,9 | 0,51 | Merah | Triterpenoid |
| | 4,5 | 7,9 | 0,57 | Merah | Triterpenoid |
| | 5,6 | 7,9 | 0,71 | Merah | Triterpenoid |
| | 6 | 7,9 | 0,76 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Etil Asetat | 3 | 7,9 | 0,38 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 4 | 7,9 | 0,51 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 4,6 | 7,9 | 0,58 | Merah | Triterpenoid |
| | 5,6 | 7,9 | 0,71 | Merah | Triterpenoid |
| | 6 | 7,9 | 0,76 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Petroleum Eter | 2 | 7,9 | 0,25 | Ungu kehitaman | - |
| | 2,3 | 7,9 | 0,29 | Merah pudar | Triterpenoid |
| | 3 | 7,9 | 0,38 | Merah | Triterpenoid |
| | 4,7 | 7,9 | 0,59 | Merah | Triterpenoid |
| | 5,7 | 7,9 | 0,72 | Merah | Triterpenoid |
| | 6,1 | 7,9 | 0,77 | Merah | Triterpenoid |

- Hasil KLTA Senyawa Triterpenoid Eluen n-Heksana : etil asetat (17:3)

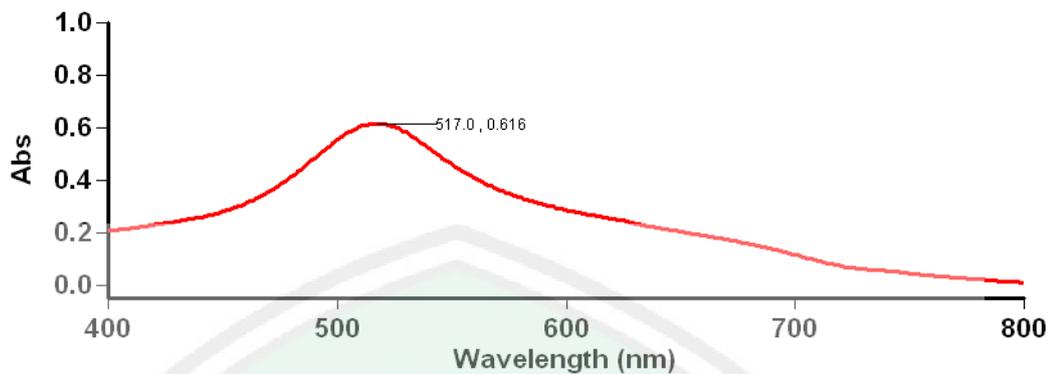


Keterangan : (a) Air, (m) Metanol, (e) Etanol, (ea) Etil asetat, (pe) Petroleum eter
Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak daun Katuk variasi pelarut dengan eluen n-Heksana : etil asetat (17:3).

| Sampel | Jarak (cm) | | Rf | Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm | Dugaan Senyawa Positif |
|------------------------|------------|-------|------|---|------------------------|
| | Noda | Eluen | | | |
| Ekstrak Air | - | - | - | - | - |
| Ekstrak Metanol | 1,6 | 8 | 0,20 | Merah pudar | Triterpenoid |
| Ekstrak Etanol | 2,7 | 8 | 0,34 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Etanol | 1,6 | 8 | 0,20 | Merah pudar | Triterpenoid |
| Ekstrak Etil Asetat | 2,8 | 8 | 0,35 | Merah | Triterpenoid |
| Ekstrak Etil Asetat | 1,7 | 8 | 0,21 | Merah pudar | Triterpenoid |
| Ekstrak Petroleum Eter | 2,8 | 8 | 0,35 | Merah | Triterpenoid |



Lampiran 5. Data Instrumentasi UV-Vis dan FTIR
5.1 Hasil Spektrofotometer UV-Vis Lamdha Max DPPH



Scan Analysis Report

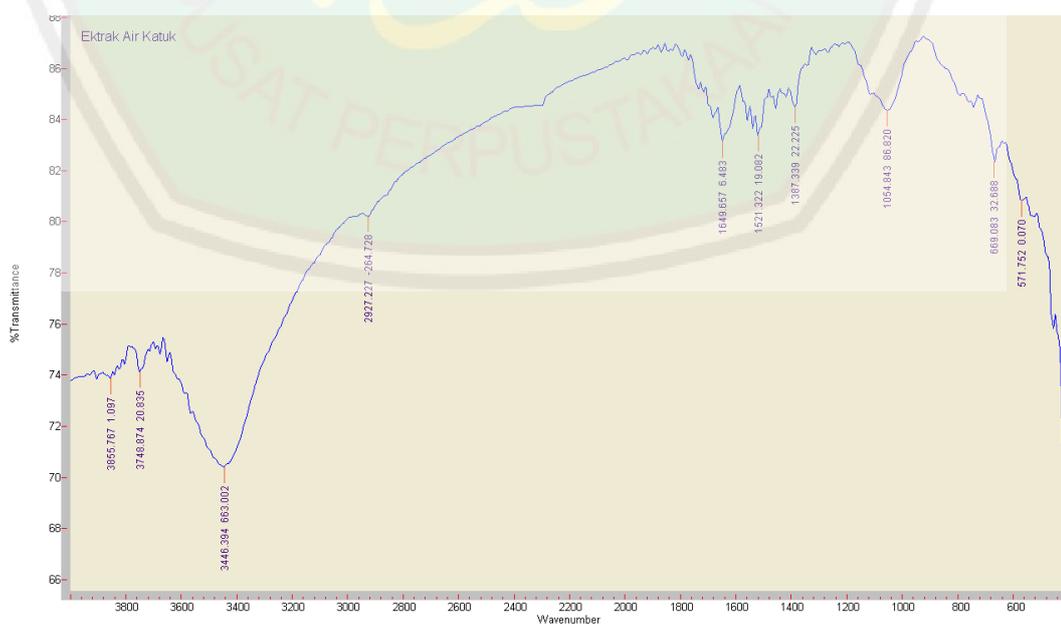
Report Time : Mon 10 Aug 03:00:54 PM 2020
 Method:
 Batch: D:\Atika Masrihanah\Lamdha Maks DPPH (10-08-2020).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

Sample Name: DPPH

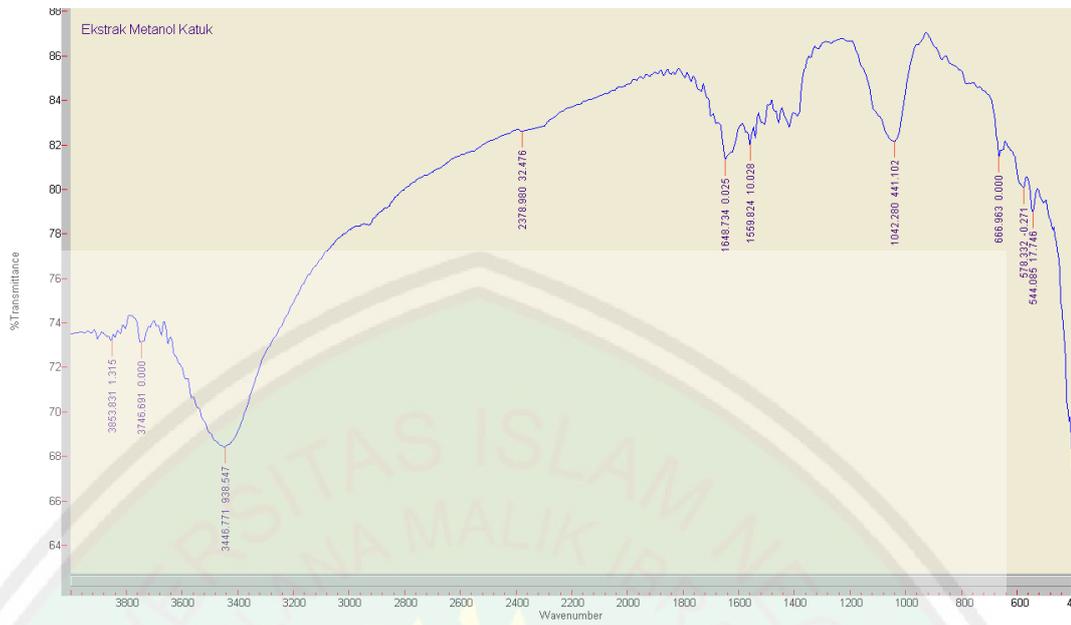
Collection Time 8/10/2020 3:01:16 PM
 Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 400.0nm

| Wavelength (nm) | Abs |
|-----------------|-------|
| 517.0 | 0.616 |

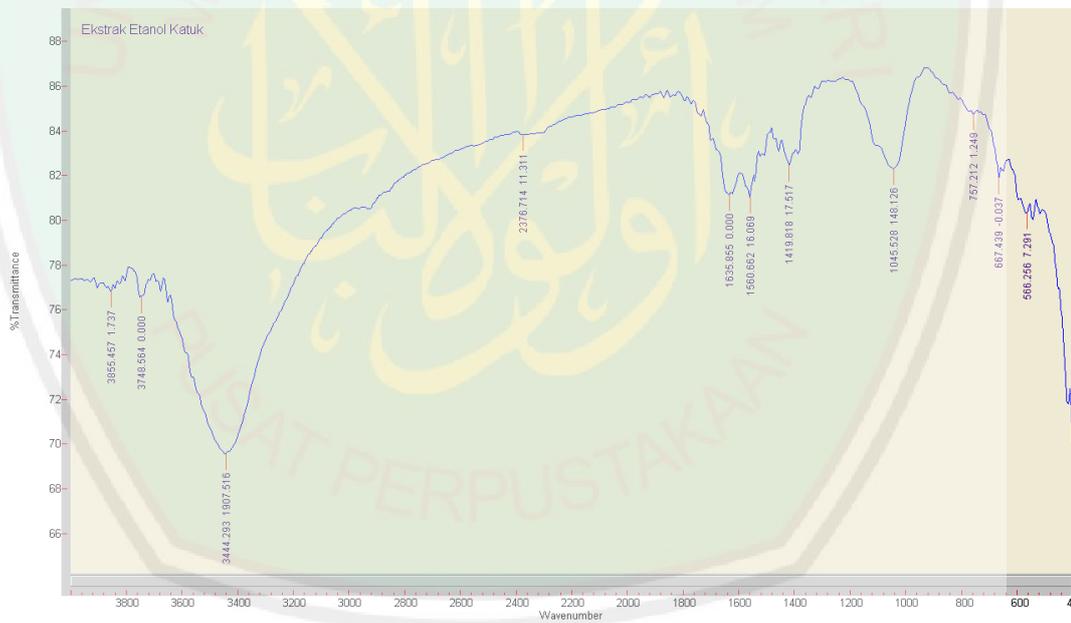
5.2 Hasil Spektrofotometer FTIR Ekstrak Petroleum Eter Daun Katuk



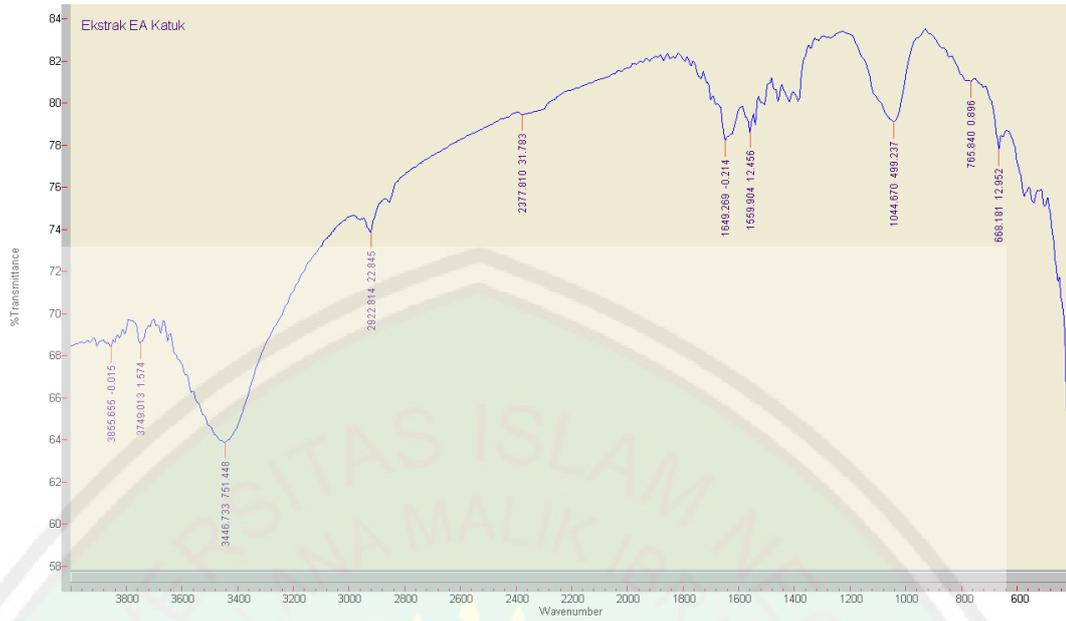
5.3 Hasil Spektrofotometer FTIR Ekstrak Petroleum Eter Daun Katuk



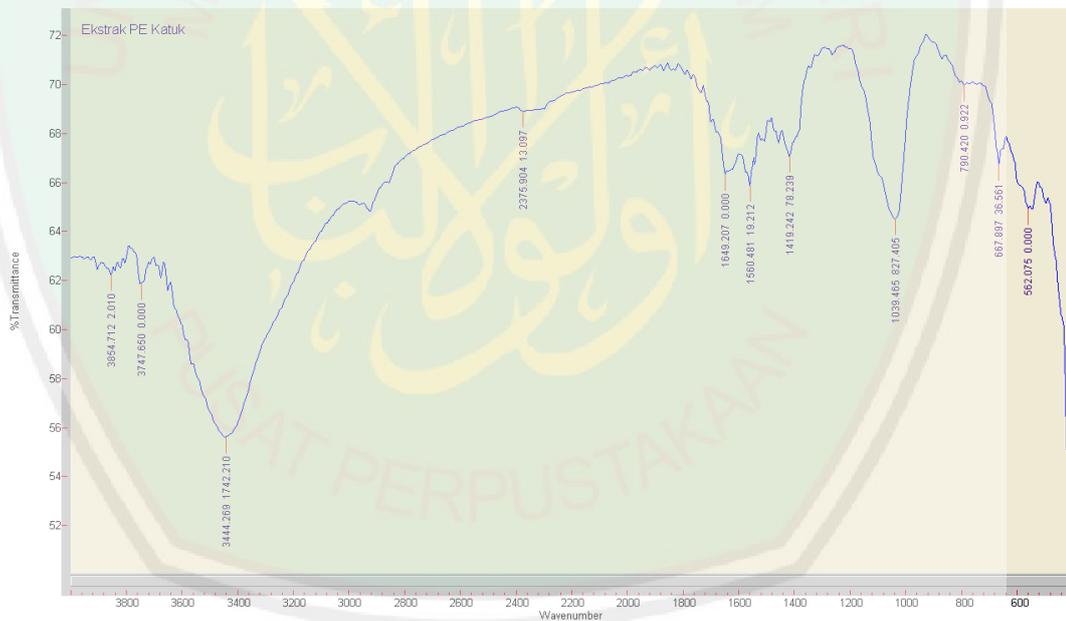
5.4 Hasil Spektrofotometer FTIR Ekstrak Petroleum Eter Daun Katuk



5.5 Hasil Spektrofotometer FTIR Ekstrak Petroleum Eter Daun Katuk



5.6 Hasil Spektrofotometer FTIR Ekstrak Petroleum Eter Daun Katuk



Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Pengeringan daun Katuk



Serbuk daun Katuk



Proses ekstraksi ultrasonik



Penyaringan dengan corong buchner



Filtrat hasil ekstraksi ultrasonik



Pemekatan dengan Rotary evaporator



Hasil ekstrak daun Katuk



Pengovenan cawan + serbuk sampel



Desikator cawan + sampel



Larutan stok sampel



Preparasi sampel uji antioksidan



Variasi konsentrasi uji antioksidan



Sampel + larutan DPPH



Penjuanan eluen



Penotolan sampel pada plat KLT



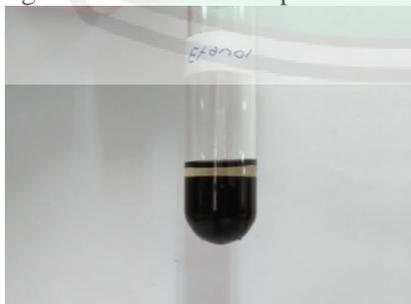
Proses elusi



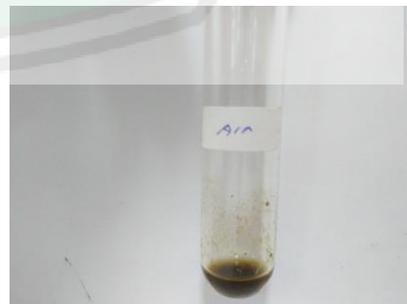
Pengamatan dibawah lampu UV 366nm



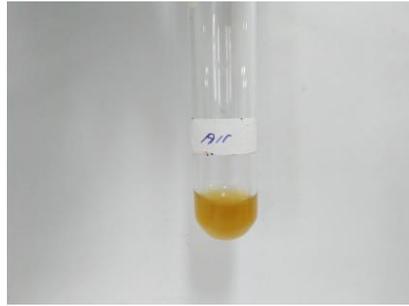
Penandaan bercak noda



Hasil positif uji triterpenoid



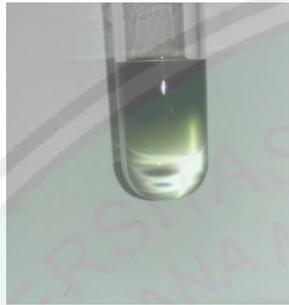
Hasil positif uji tanin



Hasil positif uji alkaloid



Hasil positif uji flavonoid



Hasil positif uji steroid



Preparasi sampel identifikasi UV-Vis dan FTIR

