

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO
(*Medinilla speciosa* Blume) MENGGUNAKAN METODE
DIPHENYLPICRYLHYDRAZYL (DPPH)**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Farmasi



Oleh :

Nawang Yudi Rizki Wulandari

33101700038

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2021**

SKRIPSI

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO
(*Medinilla speciosa* Blume) MENGGUNAKAN METODE
DIPHENYLPICRYLHYDRAZYL (DPPH)

Dipersiapkan dan disusun oleh
Nawang Yudi Rizki Wulandari
33101700038

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 1 Desember 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Apt.Rina Wijayanti, M.Sc.,

Pembimbing II

Windi Susmayanti, M.Sc.,

Anggota Tim Penguji I

Dr.Ir.Hj.Titiek Sumarawati, M.Kes

Anggota Tim Penguji II

Apt.Ika Buana Januarti, M.Sc.,

Semarang, 1 Desember 2021

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nawang Yudi Rizki Wulandari

NIM : 33101700038

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO
(*Medinilla speciosa* Blume) MENGGUNAKAN METODE
DIPHENYLPICRYLHYDRAZYL (DPPH)”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 1 Desember 2021



Nawang Yudi Rizki Wulandari

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nawang Yudi Rizki Wulandari

NIM : 33101700038

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

Alamat Asal : Desa Kalijambe Rt.5 Rw.3 Kec.Tarub Kab.Tegal

No HP/ Email : 082137706184/ nawangwulandari11@gmail.com

Dengan ini menyerahkan karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul :

“ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL BUAH PARJOTO (*Medinilla speciosa* Blume) MENGGUNAKAN METODE DIPHENYLPICRYLHYDRAZYL (DPPH)”

Dan menyetujui menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung serta memberikan Hak Bebas Royalti Non Eklusif untuk disimpan, dialih mediakan, dikelola dalam pangkalan data dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila di kemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta Plagiarisme dalam karyatulis ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 1 Desember 2021

Yang Menyatakan



Nawang Yudi Rizki Wulandari

PRAKATA

Assalamualaikum Wr. Wb

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa* Blume) MENGGUNAKAN METODE DIPHENYLPICRYLHYDRAZYL (DPPH)”** untuk memenuhi syarat menempuh program Pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya.

Dengan terselesaikannya skripsi ini, terbuka kesempatan bagi penulis untuk menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar – besarnya kepada mereka yang telah membantu tersusunya skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada:

1. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Rina Wijayanti, M.Sc., Apt selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Ibu Rina Wijayanti, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing I dan Ibu Windi Susmayanti, M.Sc., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan

bimbingan dan pengarahan dengan sabar dan penuh pengertian pada penulis dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

4. Ibu Dr.Ir.Hj.Titiek Sumarawati, M.Kes selaku penguji I, dan Ibu Apt.Ika Buana Januarti, M.Sc., selaku penguji II yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis untuk perbaikan skripsi ini.
5. LPPM UNISSULA yang telah mendanai penelitian ini dalam skema penelitian internal tahun 2021.
6. Kedua orang tua tercinta, Bapak Wahyudi, Ibu Khotimah, Adek tercinta Siti Laela Mamuda dan Badar Setia Yudi dan keluarga besar. Terima kasih yang tak terhingga atas doa, semangat, kasih sayang, dan pengorbanan dalam mendampingi. Serta selalu memberi dukungan baik moril maupun materil dan doa yang tak kunjung usai menyertai penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat terdekat (Zumrotun Alma Rifah) yang selalu memberi dukungan, motivasi dan semangat dalam penyusunan skripsi ini.
8. Mba Zhazha, Mba Unen, Mba Emah, Mba Silvi, Mba Adez, Mba Ukhti, Mba Puput, yang telah banyak memberikan motivasi, semangat dan yang selalu mendoakan dalam terselesainya skripsi ini.
9. Tim penelitian Parijoto Squad (Rosyida Hidayati, Silfiya Rahma, dan Dyana Shirvi) yang selalu berjuang dan saling mendoakan, memberikan semangat, motivasi dalam terselesaikannya skripsi ini.

10. Teman-teman asisten laboratorium teknologi herbal 2017 (Rosyida Hidayati, Silfiya Rahma, Dyana Shirvi, Tri Puji Fatmawati, Melati Purnamasari, Muhamad Zidnal Huda) dan asisten laboratorium herbal 2018 yang selalu memberikan semangat dan memotivasi dalam penyusunan skripsi ini.
11. Keluarga besar Sedativa 2017 yang menemani berjuang dari awal sampai akhir hingga dapat menempuh skripsi dan terselesaikannya skripsi ini.
12. Teman-teman Divisi Keilmiahan HIMAFARMA periode 2019-2020 yang telah memberi dukungan serta semangat.
13. Analis Laboratorium Farmasi FK UNISSULA (Mba Ninis dan Mba Indah) yang telah membantu persiapan penelitian skripsi ini.
14. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena itu saran dan kritik bersifat membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Semarang, 1 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
INTISARI.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kajian Teori.....	5
2.1.1 Tanaman Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i> Blume).....	5
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Parijoto	5
2.1.3 Khasiat.....	6
2.1.4 Morfologi Tanaman Parijoto	6
2.1.5 Kandungan Kimia.....	7
2.2 Ekstraksi	8
2.2.1 Ekstraksi	8

2.2.2 Maserasi.....	8
2.3 Fraksinasi.....	9
2.4 Isolasi.....	10
2.4.1 KLT Preparatif.....	10
2.5 Antioksidan.....	11
2.6 Radikal Bebas.....	14
2.6.1 Sumber Radikal Bebas.....	14
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil).....	15
2.8 Hubungan antara Ekstrak, Fraksi dan Isolat Parijoto dengan Aktivitas Antioksidan.....	16
2.9 Kerangka Teori.....	18
2.10 Kerangka Konsep.....	18
2.11 Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	20
3.2 Variabel dan Definisi Operasional.....	20
3.2.1 Variabel.....	20
3.2.2 Definisi Operasional.....	20
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	23
3.3.1 Populasi Penelitian.....	23
3.3.2 Sampel Penelitian.....	23
3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	23
3.4.1 Instrumen Penelitian.....	23
3.4.2 Bahan Penelitian.....	23
3.5 Prosedur Penelitian.....	24
3.5.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Parijoto.....	24
3.5.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Parijoto.....	24
3.5.3 Fraksinasi.....	26
3.5.4 Determinasi Tanaman.....	27
3.5.5 Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak, Fraksi Buah Parijoto.....	27

3.5.6	Isolasi.....	28
3.5.7	Uji Kemurnian Isolat	29
3.5.8	Uji Aktivitas Antioksidan.....	29
3.6	Tempat dan Waktu Penelitian.....	32
3.6.1	Tempat.....	32
3.6.2	Waktu	33
3.7	Analisis Data.....	33
3.8	Alur Penelitian	34
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1.	Hasil Penelitian.....	35
4.1.1.	Determinasi Tanaman Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i> Blume)....	35
4.1.2.	Rendemen Tanaman Buah Parijoto	36
4.1.3.	Pemeriksaan Kadar Air.....	36
4.1.4.	Skrining Fitokimia	36
4.1.6.	Hasil Uji Aktvitas Antioksidan.....	38
4.1.7.	Proses Isolasi Fraksi Teraktif.....	41
4.1.8.	Hasil Uji Kemurnian Isolat.....	41
4.1.9.	Hasil Aktivitas Antioksidan Isolat dari Fraksi Metanol Buah Parijoto.....	42
4.1.10.	Analisis Statistik Uji Aktivitas Antioksidan.....	44
4.2.	Pembahasan	47
4.2.1.	Determinasi Tanaman.....	47
4.2.2.	Ekstraksi Buah Parijoto	47
4.2.3.	Fraksinasi Buah Parijoto.....	51
4.2.4.	Uji Skrining Fitokimia	54
4.2.5.	Penetapan Kadar Flavonoid Total	57
4.2.6.	Isolasi Fraksi Teraktif	58
4.2.7.	Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi n-Heksan dan Isolat Metanol Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i> Blume)	64
BAB V	PENUTUP.....	76

5.1. Kesimpulan.....	76
5.2. Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN.....	85

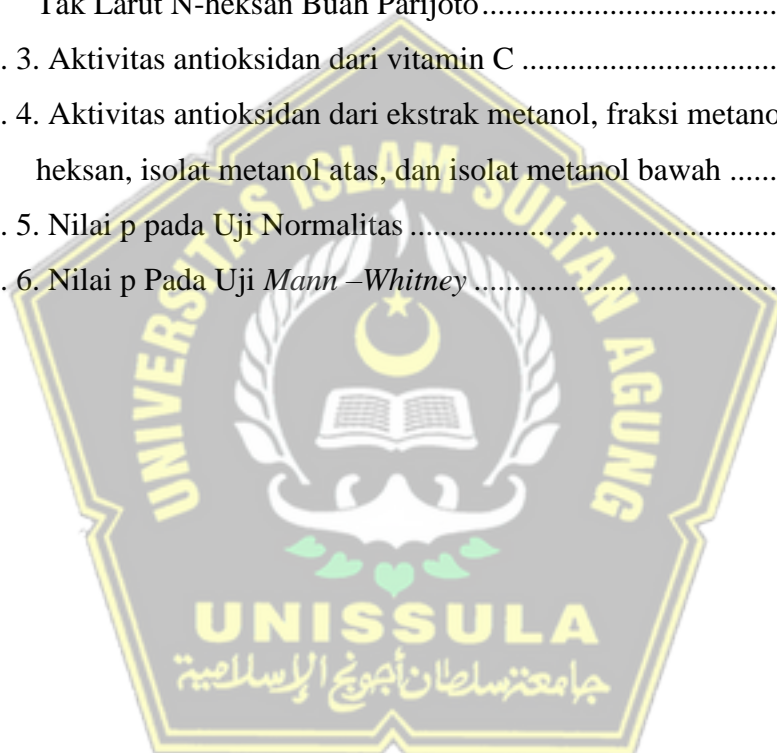


DAFTAR SINGKATAN

μl	: Mikroliter
μg	: Mikrogram
ANOVA	: <i>Analysis Of Variance</i>
$^{\circ}\text{C}$: Celcius
DPPH	: <i>2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl</i>
EMBP	: Ekstrak Metanol Buah Parijoto
FeCl_3	: Feri Klorida
GAE	: Gallic Acid Equivalent
GPx	: Glutation peroksidase
HCl	: <i>Hidrogen Klorida</i>
H_2SO_4	: Asam Sulfat Pekat
IC_{50}	: <i>Inhibitory Concentration Of 50%</i>
Kg	: Kilogram
Mg	: Magnesium
mg	: Miligram
ml	: Milliliter
NaNO_3	: Natrium Nitrat
NaOH	: Natrium Hidroksida
nm	: nanometer
Ppm	: <i>Part Per Million</i>
Rf	: <i>Retention Factor</i>
ROS	: Reactive Oxygen Species
SOD	: Superoksida Dismutase
Uv-Vis	: <i>Ultraviolet Visibel.</i>

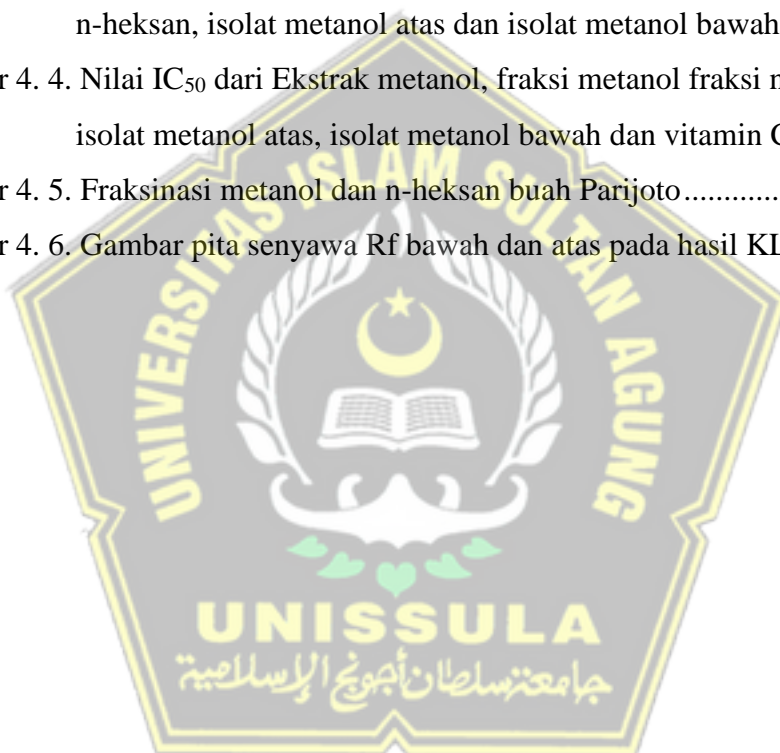
DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1. Waktu Penelitian	33
Tabel 3. 2. Alur Penelitian	34
Tabel 4. 1. Skrinning Fitokimia Ekstrak metanol, Fraksi n-heksandan Tak Larut N- Heksan Buah Parijoto	37
Tabel 4. 2. Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak metanol, Fraksi n-heksandan Tak Larut N-heksan Buah Parijoto.....	37
Tabel 4. 3. Aktivitas antioksidan dari vitamin C	38
Tabel 4. 4. Aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n- heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah	39
Tabel 4. 5. Nilai p pada Uji Normalitas	44
Tabel 4. 6. Nilai p Pada Uji <i>Mann –Whitney</i>	45



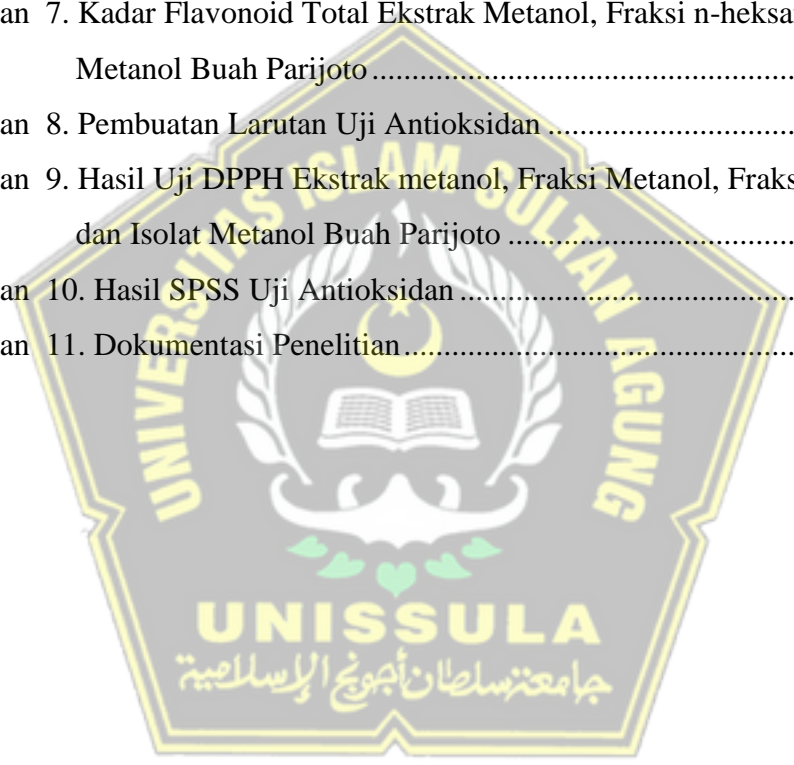
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i> Blume)	5
Gambar 2. 2. Kerangka Teori.....	18
Gambar 2. 3. Kerangka Konsep	18
Gambar 4. 1. Hasil Uji Kemurnian Isolat Metanol Atas dan Bawah.....	42
Gambar 4. 2. Kurva Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	39
Gambar 4. 3. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan, isolat metanol atas dan isolat metanol bawah	40
Gambar 4. 4. Nilai IC ₅₀ dari Ekstrak metanol, fraksi metanol fraksi n-heksan, isolat metanol atas, isolat metanol bawah dan vitamin C.....	40
Gambar 4. 5. Fraksinasi metanol dan n-heksan buah Parijoto.....	53
Gambar 4. 6. Gambar pita senyawa Rf bawah dan atas pada hasil KLTP.....	60



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	85
Lampiran 2. Determinasi Tanaman	86
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian	87
Lampiran 4. Perhitungan Hasil Rendemen	88
Lampiran 5. Kadar Air	89
Lampiran 6. Skrining fitokimia.....	89
Lampiran 7. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksan dan Fraksi Metanol Buah Parijoto	92
Lampiran 8. Pembuatan Larutan Uji Antioksidan	96
Lampiran 9. Hasil Uji DPPH Ekstrak metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N-Heksan dan Isolat Metanol Buah Parijoto	101
Lampiran 10. Hasil SPSS Uji Antioksidan	109
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian.....	126



INTISARI

Antioksidan merupakan substansi yang dapat memberikan perlindungan dari kerusakan akibat radikal bebas. Buah Parijoto memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid yang berpotensi sebagai aktivitas antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan dan isolat metanol buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume).

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan post test only control group design. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin*), terdiri dari 7 kelompok, yaitu kelompok I (ekstrak metanol), kelompok II (fraksi metanol), kelompok III (fraksi n-heksan), kelompok IV (isolat metanol atas), kelompok VI (isolat metanol bawah), kelompok VI (kontrol positif), dan kelompok VII (kontrol negatif). Analisis menggunakan analisis *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan *Mann-Whitney*.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara masing-masing kelompok. Nilai IC_{50} kelompok ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan, isolat metanol atas dan isolat metanol bawah secara berturut-turut sebesar 43,58 $\mu\text{g/ml}$, 40,64 $\mu\text{g/ml}$, 329,44 $\mu\text{g/ml}$, 60,42 $\mu\text{g/ml}$, dan 50,12 $\mu\text{g/ml}$, dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 23,32 $\mu\text{g/ml}$. Penelitian ini memperlihatkan bahwa buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) berpotensi memiliki potensi sebagai antioksidan alami.

Kata kunci : *Medinilla speciosa* Blume, Antioksidan, DPPH, IC_{50} ,



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Dunia kesehatan, radikal bebas dikaitkan dengan penyakit degeneratif seperti patogenesis diabetes, kerusakan hati, nefrotoksisitas, inflamasi, kanker, dan penuaan dini (Onkar *et al.*, 2012). Berdasarkan data WHO tahun 2008, angka kematian di Asia Tenggara sekitar 55% atau 7,9 juta disebabkan oleh penyakit degeneratif (Ningsih *et al.*, 2016). Terdapat bukti bahwa stroke dikaitkan dengan radikal bebas yang timbul dari sumber seperti xantin oksidase, siklooksigenase, sel inflamasi dan mitokondria (Claude & Piantadosi, 2008). Di negara-negara Barat, stroke adalah penyebab utama kematian. Stroke iskemik sekitar 75% dari semua kasus sementara stroke hemoragik hampir 15% dari semua stroke (Mariani *et al.*, 2005). Oleh karena itu, dibutuhkan antioksidan untuk menghambat radikal bebas.

Antioksidan merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan mampu mencegah penyakit yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Isnindar *et al.*, 2011). Beberapa antioksidan dapat diperoleh dari produk alamiah, seperti dari rempah-rempah, herbal, sayuran dan buah. Sebagian besar antioksidan diproduksi secara sintetik, seperti BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxytoulena*) dan TBHQ (*tertiary butylated hydroquine*). Akan tetapi, penggunaan jangka panjang antioksidan sintetik memiliki efek toksik dibandingkan dengan antioksidan alami. Seperti

alergi, asma, radang hidung, sakit kepala, sampai terjadinya penurunan kesadaran. Sehingga, peningkatan terhadap pencarian antioksidan alami untuk menggantikan antioksidan sintetik dapat ditingkatkan, seperti memanfaatkan tumbuhan (Race, 2009).

Menurut Nishanthini (2012) menyatakan bahwa tumbuhan yang mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan fenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Nishanthini *et al.*, 2012). Salah satu spesies dari famili *Melastomaceae* adalah *Medinilla speciosa* Blume atau buah Parijoto, merupakan jenis tanaman khas yang tumbuh di daerah Colo, Kudus Jawa Tengah (Wibowo *et al.*, 2012). Ekstrak dan fraksi metanol buah Parijoto terdapat flavonoid, saponin, tanin, glikosida (Wachidah *et al.*, 2013). Ekstrak n-heksan buah Parijoto mengandung terpenoid (Niswah, 2014). Sedangkan fraksi n-heksan buah Parijoto terbukti memiliki senyawa antosianin (Legawati *et al.*, 2020). Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kasar buah parijoto memiliki nilai IC_{50} 30,51 $\mu\text{g/ml}$, pada fraksi metanol buah parijoto nilai IC_{50} 46,65 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan nilai IC_{50} pada fraksi n-heksan buah Parijoto 292,44 $\mu\text{g/ml}$ (Wachidah, 2013).

Aktivitas antioksidan dapat diuji menggunakan metode DPPH. Metode ini memiliki kelebihan cepat, spesifitasnya tinggi dan cocok untuk mengevaluasi aktivitas penangkapan radikal dari antioksidan non-enzimatik (F. Setiawan *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil penelusuran pustaka, telah dilakukan ekstraksi dan fraksinasi buah parijoto sebagai antioksidan menggunakan metode DPPH. Oleh karena itu, dilakukan proses isolasi buah

Parijoto karena diduga terdapat senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan dilakukannya isolasi adalah untuk memperoleh senyawa murni isolat dari suatu fraksi aktif (Wati *et al.*, 2017). Sehingga bisa sebagai pengembangan terhadap penemuan obat baru yang berpotensi sebagai obat (Djadjanegara & Wahyudi, 2010).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dibuat rumusan masalah penelitian sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan metode DPPH?
2. Berapakah kadar % inhibisi dan nilai IC₅₀ dari ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan metode DPPH.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar % inhibisi dan nilai IC₅₀ pada ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait aktivitas ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) sebagai antioksidan dengan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan penelitian uji in vitro untuk menggali terkait potensi dari pengaruh pemberian ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dengan konsentrasi 1000 ppm terhadap aktivitasnya sebagai antioksidan dengan metode DPPH.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Tanaman Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Gambar buah Parijoto tersaji pada Gambar 2.1 berikut :



Gambar 2. 1. Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Parijoto

Klasifikasi tanaman *Medinilla speciosa* Blume adalah sebagai berikut:

- Divisio : Magnoliophyta
- Classis : Magnoliopsida
- SubClassis : Rosidae
- Ordo : Myrtales
- Familia : Melastomaceae
- Genus : *Medinilla*

Species : *Medinilla speciosa* (Reinw. Ex Bl.) Bl.

Vern. Name : Parijoto

2.1.3 Khasiat

Ekstrak etanolik buah parijoto juga terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan aktivitas seksual pada tikus jantan model DM Kronik (Wijayanti & Lestari, 2018) Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wachidah *et al.*, (2013) fraksi etil asetat buah parijoto (*M. speciosa*) mengandung senyawa aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ terbaik 20,34 µg/ml, yang mana artinya kandungan antioksidannya sangat kuat.

2.1.4 Morfologi Tanaman Parijoto

Tanaman Parijoto termasuk spesies dari famili *Melastomataceae*. Parijoto merupakan tanaman perdu yang memiliki tinggi sekitar 1-2 m, batang bulat, kulit tua terdapat lapisan gabus, kasar, bergerigi, dan putih kecoklatan. Tanaman Parijoto memiliki tangkai pendek, bulat, lunak dan warna ungu kemerahan. Bentuk helai lonjong, dimana ujung pangkal daun berbentuk runcing, tepi rata memiliki panjang sekitar 10-20 cm, lebar 5-15 cm, jenis daun tunggal berwarna hijau, dan memiliki permukaan bawah kasar, warna hijau kelabu, berbunga majemuk, termasuk bunga sempurna yang memiliki kelopak 5 helai dimana jumlah benang sari 2 kali lipat lebih banyak dari jumlah mahkota. Kepala sari kuncup dan membengkok, warna merah keunguan. Kepala putik bulat, ungu, bentuk kuku, panjang sekitar 5-8 mm, tanaman

Parijoto memiliki buah berbentuk bulat, berwarna merah muda sampai merah keunguan dimana biji berbentuk bulat, kecil, jumlah banyak, warna putih. Akar tanaman Parijoto berwarna putih dan termasuk kedalam jenis monokotil, karena memiliki akar yang berserabut (Niswah, 2014).

2.1.5 Kandungan Kimia

Hasil penelitian yang dilakukan Wijayanti & Lestari, (2018) menunjukkan bahwa Tumbuhan dengan famili *Melastomataceae* memiliki senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan seperti *Melastoma malabathrium*. Buah Parijoto memiliki senyawa metabolit sekunder seperti saponin, kardenolin, flavonoid, dan tannin. Senyawa saponin dan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan (Indrisari, *et al.*, 2013).

Beberapa senyawa antioksidan yang dikandung buah parijoto antara lain antosianin, fenol, flavonoid, dan tannin (Wachidah, 2013). Hal ini terbukti dengan hasil penelitian yang dilakukan Niswah (2014) menyatakan ekstrak n-heksan buah parijoto mengandung senyawa terpenoid (Niswah, 2014). Sedangkan hasil penelitian oleh Legawati (2020) menunjukkan bahwa fraksi n-heksan buah parijoto mengandung senyawa antosianin (Legawati *et al.*, 2020). Sementara itu, pada fraksi metanol buah parijoto terbukti mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan glikosida (Wachidah, 2013). Senyawa antioksidan memberikan kontribusi yang penting bagi kesehatan tubuh, terutama

untuk mencegah dan mengatasi penyakit degenerative (Hasbullah *et al.*, 2020).

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah dilakukan ekstraksi, maka suatu pelarut dapat dipisahkan dari sampel dengan metode penyaringan. Pada ekstrak awal untuk mengisolasi senyawa tunggal melalui teknik pemisahan tunggal sulit dilakukan. Hal ini dikarenakan ekstrak awal sulit dipisahkan sehingga ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas yang sama (Mukhriani, 2014).

2.2.2 Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara mencampurkan serbuk tanaman yang akan digunakan dengan pelarut yang sesuai kedalam suatu wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan apabila tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman, kemudian pelarut dapat dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Keuntungan dari metode ini adalah sederhana, mudah dilakukan dan menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil. Disisi lain metode ini juga

memiliki kekurangan seperti membutuhkan waktu yang cukup lama dalam pengerjaannya, menggunakan lebih banyak pelarut dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang (Mukhriani, 2014).

2.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu proses yang dilakukan untuk memperoleh senyawa yang pemisahannya lebih spesifik. Prinsip dari fraksinasi adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur dan berdasarkan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi. Pelarut yang umumnya digunakan untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol (Irwan, 2017).

Menurut Suryanto (2009) menyatakan bahwa pemilihan metanol sebagai pelarut dikarenakan metanol mampu memisahkan lebih banyak jumlah metabolit sekunder untuk senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin, dibandingkan dengan etanol. Selain itu metanol mempunyai titik didih yang relatif rendah sehingga mudah diuapkan (Suryanto & Wehantouw, 2009).

Fraksinasi menggunakan n-heksana bertujuan untuk mengekstrak lemak dan terpena. N-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat non polar (Firdaus et al., 2015), sedangkan untuk menarik senyawa yang bersifat semi polar digunakan etil asetat, dan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar digunakan metanol. Berdasarkan proses ini dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar

sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang bersifat non polar (Sari, I. 2012).

2.4 Isolasi

Isolasi adalah cara pemisahan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu bahan alam. Isolasi senyawa bahan alam terdiri dari ekstraksi, fraksinasi, pemurnian dan identifikasi. Faktor yang perlu diperhatikan sebelum melakukan isolasi adalah sifat dari senyawa target yang ada dalam ekstrak awal atau dalam fraksi. Sifat umum molekul yang dapat membantu proses isolasi yaitu kelarutan (hidrofilisitas atau hidrofobisitas), sifat asam-basa, muatan, stabilitas, dan ukuran molekul. Sifat ekstrak juga dapat membantu dalam pemilihan metode isolasi yang tepat. Kemudian untuk menentukan senyawa yang terkandung dari hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan KLT multi eluen. Pada penelitian ini, isolat yang akan diteliti aktivitasnya sebagai antioksidan adalah isolat dari fraksi teraktif (Mukhriani, 2014).

2.4.1 KLT Preparatif

KLT merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, plat alumunium, atau plat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Mukhriani, 2014).

Pada kromatografi, komponen-komponennya akan dipisahkan antara dua buah fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam akan

menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal. Sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat (Atun, 2014).

Kromatografi lapis tipis preparatif dilakukan untuk mengisolasi senyawa-senyawa tunggal yang ada pada fraksi aktif (Hidayati, 2012). Pada KLTP fase diam berupa plat silica gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 20 cm x 20 cm. Fase diam berperan penting sebagai adsorben dalam penyerapan pelarut. Sedangkan, fase gerak berupa pelarut yang ditentukan dengan coba-coba berdasarkan dengan polaritas pelarut. Kemampuan ini disebut kekuatan elusi, dan urutan kekuatan elusi beberapa pelarut yaitu air > metanol > etanol > aseton > etil asetat > kloroform > dietil eter > metilen diklorida > benzena > toluena > karbon tetraklorida > heksan > petroleum eter (Atun, 2014). Selain itu, dalam menentukan pemilihan pelarut sebagai fase gerak dapat pula berdasarkan pustaka. Pelarut dibuat dengan perbandingan antara pelarut polar, semi polar, dan non polar. Sehingga terjadi peningkatan polaritas. Pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat, dan n-heksan (Syaima, 2015).

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu molekul yang mampu menghambat proses oksidasi, dimana prosesnya dilakukan dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga terjadinya kerusakan sel

dapat dihambat (Tirzitis & Bartosz, 2010). Secara umum antioksidan terbagi menjadi dua yaitu, antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik antara lain *superoksida dismutase* (SOD), *glutathion peroksidase* (GPx), dan katalase, sedangkan antioksidan non-enzimatik antara lain vitamin E, vitamin C, beta karoten yang diperoleh dari tanaman (Nisma *et al.*, 2011).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier (Winarsi, 2011).

a. Antioksidan primer (Antioksidan Endogenus)

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer jika dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

b. Antioksidan sekunder (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan sekunder atau antioksidan non-enzimatik disebut sistem pertahanan preventif. Dalam sistem pertahanan ini, terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkkelatan metal, atau dirusak pembentukannya. Antioksidan sekunder dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Senyawa antioksidan non-enzimatik bekerja dengan cara menangkap

radikal bebas (*free radical scavenger*), kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya.

c. Antioksidan tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *single* dan *double strand*, baik gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2011).

Vitamin C adalah salah satu senyawa kompleks yang terdapat dalam buah dan sayuran yang memiliki sifat larut air. Menurut Tahir *et al.*, (2016). vitamin C merupakan suatu senyawa atau zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh dengan prekursornya adalah karbohidrat. Vitamin C dikenal juga dengan nama asam askorbat. Dalam tubuh manusia senyawa ini berfungsi sebagai katalis dalam reaksi kimia. Oleh karena itu, jika jenis katalis ini tidak terdapat dalam tubuh maka fungsi normal tubuh akan terganggu (Pakaya, 2014).

Antioksidan alami dapat diperoleh dari makanan sehari-hari seperti sayuran, buah-buahan, kacang-kacangan dan tanaman lainya yang mengandung antioksidan bervitamin seperti vitamin C, A dan E. Vitamin C memiliki sifat mudah larut dalam air dan mudah teroksidasi. Asam askorbat atau vitamin C dalam buah-buahan dan sayuran akan rusak atau berkurang akibat proses oksidasi berupa paparan udara,

pemasakan dan pengirisan, serta penyimpanan yang tidak tepat. Salah satu bentuk tindakan agar kandungan vitamin C pada sayuran dan buah-buahan tetap terjaga yaitu proses pengemasan buah dan sayuran pada suhu rendah (di lemari es). Menurut Aina & Suprayogi (2010) manfaat vitamin C bagi tubuh yaitu sebagai antioksidan, sintesis kolagen, dan anti kanker. Kebutuhan vitamin C oleh setiap tubuh berbeda, hal ini tergantung pada usia, jenis kelamin, sifat metabolisme, dan penyakit tertentu. Orang dewasa dianjurkan konsumsi 100-150 mg, vitamin C (Badriyah & Manggara, 2015).

2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang pada orbital terluarnya mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Senyawa radikal bebas dapat timbul disebabkan oleh adanya proses kimia kompleks didalam tubuh, hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan atau ketika terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar dan radiasi matahari (Rosahdi et al., 2013).

2.6.1 Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen), dapat pula berasal dari luar tubuh (eksogen). Secara endogen, sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh, radikal bebas yang terbentuk dan berpengaruh di dalam sel (intrasel) maupun

ekstrasel. Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, reaksi antara besi logam transisi dalam tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom, maupun pada kondisi iskemia. Secara endogen, radikal bebas dapat timbul melalui beberapa mekanisme yaitu : oto-oksidasi, aktivitas oksidasi (misalnya: siklooksigenase, lipooksigenase, dehidrogenase dan peroksidase), sistem transpor electron (Sayuti, 2015).

2.7 Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil).

Pengujian aktivitas antioksidan sampel uji secara in-vitro dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, meliputi : ORAC method (*Oxygen Radical Absorbance Capacity method*), TRAP method (*total Radical-Trapping Antioxidant Parameter method*). TEAC method (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity method*), PRSC method (*Peroxyl Radical Scavenging Capacity method*), DPPH (*2,2-diphenylpicrylhydrazyl*), TOSC method (*Total Oxyradical Scavenging Capacity method*), FRAP method (*Ferric Reducing / Antioxidant Power method*), dan pada penelitian ini yang digunakan adalah metode DPPH (Hidayah et al., 2018). Uji DPPH merupakan uji aktivitas penangkapan radikal hidroksil yang dilakukan secara in vitro. Pengujian dengan cara ini dilakukan dengan cara mengukur penangkapan radikal sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol pada suhu kamar. Radikal sintetik yang digunakan adalah DPPH (*1,1-diphenyl-2-*

picrylhydrazin). Senyawa DPPH sebagai penghasil dari radikal hidroksil dapat diredam oleh antioksidan dari bahan uji. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Rohman *et al.*, 2010).

Metode DPPH dipilih pada pengujian aktivitas antioksidan karena memiliki prosedur yang mudah dan cepat untuk mengevaluasi aktivitas penangkapan radikal dari antioksidan non-enzimatik. Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas menjadi senyawa non-radikal. Hal ini ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang menandakan bahwa senyawa radikal bebas telah tereduksi oleh adanya antioksidan (F. Setiawan *et al.*, 2018). DPPH biasa dilakukan untuk menguji aktivitas antoksidan dari sayuran, tanaman, buah, dan makanan yang menggunakan pelarut organik alkoholik seperti etanol, metanol, dan air. Metode ini dilaksanakan pada temperature yang tidak tinggi sehingga cocok untuk sampel yang tidak tahan dengan panas (Singh, 2011).

2.8 Hubungan antara Ekstrak, Fraksi dan Isolat Parijoto dengan Aktivitas

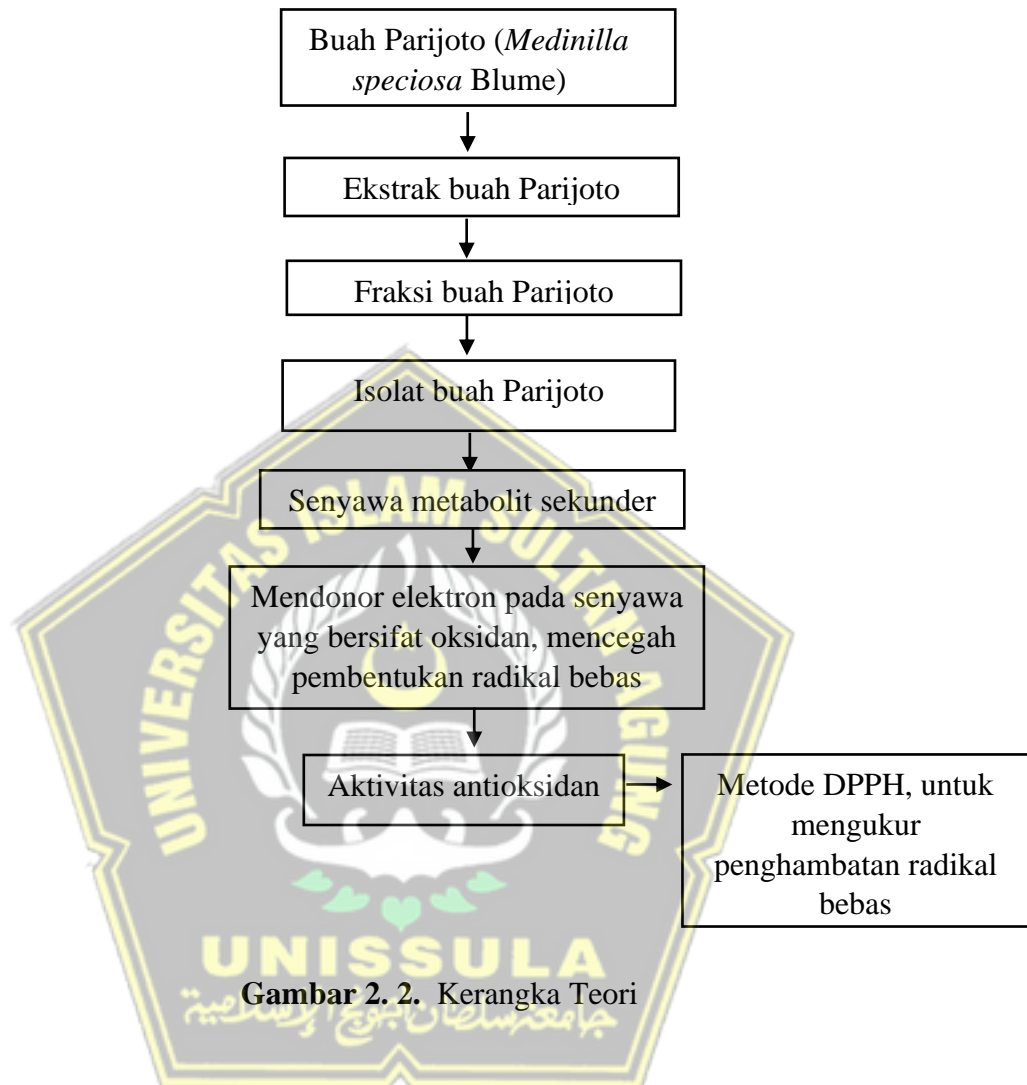
Antioksidan

Berdasarkan penelitian dari Wijayanti dan Lestari (2020) kandungan dalam buah Parijoto terdapat senyawa saponin, kardenolin, flavonoid, dan tannin. Sedangkan menurut Wachidah (2013) senyawa antioksidan yang

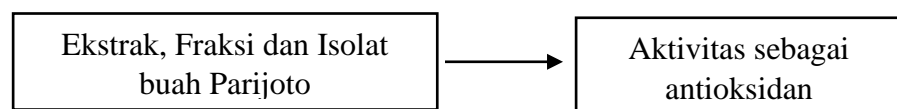
dikandung buah parijoto antara lain antosianin, fenol, flavonoid, dan tannin (Wachidah, 2013). Selain itu, dinyatakan bahwa senyawa saponin dan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan (Indrisari, dkk, 2013).

Pada ekstrak n-heksan buah parijoto mengandung senyawa terpenoid (Niswah, 2014). Fraksi n-heksan buah parijoto mengandung senyawa antosianin dengan kadar 22,15 ppm dan nilai aktivitas antioksidan sebanyak 73,54% (Legawati *et al.*, 2020). Sementara itu, pada fraksi metanol buah parijoto terbukti mengandung senyawa flavonoid, tannin, saponin, dan glikosida dan nilai rata-rata IC_{50} sebanyak 46,65 $\mu\text{g/ml}$ (Wachidah, 2013). Pada penelitian Pujiastuti (2019) menjelaskan bahwa ekstrak etanol buah parijoto dengan konsentrasi 1000 ppm yang dilakukan pengenceran dengan lima konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan ppm, masing-masing memiliki keefektifan sebagai antioksidan, hal ini dilihat dari hasil nilai % inhibisi 30,88; 56,75; 74,13; 78,76; dan 76,83. Nilai rata-rata IC_{50} 33,75 ppm. Oleh karena itu, buah parijoto memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang terbukti berperan sebagai antioksidan (Pujiastuti & Saputri, 2019).

2.9 Kerangka Teori



2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2. 3. Kerangka Konsep

2.11 Hipotesis

Ekstrak, fraksi dan Isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan metode DPPH.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain *post-test only control group design*.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dengan konsentrasi 1000 ppm.

3.2.1.2 Variabel terikat

Variabel tergantung dalam penelitian adalah aktivitas sebagai antioksidan.

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Ekstrak, fraksi dan Isolat buah parijoto yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari daerah Kudus, Jawa Tengah. Pembuatan ekstrak buah Parijoto menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol 1:10. Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan pelarut metanol dan n-heksan pada

ekstrak Parijoto masing-masing sebanyak 100 mL kedalam corong pisah, dikocok sampai terbentuk dua lapisan atas dan bawah. Lapisan dipisahkan dengan cara membuka kran corong pisah untuk mengambil lapisan metanol, lapisan atas yang tertinggal dicorong pisah ditambahkan pelarut n-heksan yang baru dengan perbandingan yang sama yaitu 100 mL. Partisi dilakukan dengan cara yang sama hingga pelarut n-heksan terlihat bening. Setelah didapatkan dua fraksi yaitu fraksi metanol dan n-heksan, uapkan diatas waterbath suhu 50°C sampai diperoleh fraksi kental. Selanjutnya proses isolasi dilakukan dengan KLT preparatif menggunakan fase diam plat silica gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 20 cm x 20 cm. Plat KLT diaktivasi dengan cara dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian, penotolan fraksi metanol dan n-heksan dengan cara menimbang masing-masing sebanyak 0,5 g, dan dilarutkan menggunakan kloroform : metanol (1:1). Selanjutnya fraksi dapat ditotolkan pada plat dengan jarak 1 cm dari garis antar spot. Plat dapat dielusi menggunakan pelarut n-heksan : etil asetat (5:1). Plat disemprot dengan serum sulfat untuk memudahkan pembacaan noda. Hasil elusi dapat dilihat di spektrofotometri UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm akan terbentuk berupa pita dimana masing-masing diukur nilai R_f. Selanjutnya dapat dilakukan pengerokan pada pita-pita

yang terbentuk dan dilakukan penyaringan dengan *sintered glass* untuk mengendapkan fase diamnya, supernatan diambil sebagai isolat. Kemudian, dilakukan uji kemurnian dengan KLT menggunakan beberapa macam pelarut yang berbeda.

Skala : Rasio

3.2.2.2 Aktivitas antioksidan diukur dengan nilai % inhibisi dan IC50

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa yang menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan % inhibisi persentase kemampuan sampel dalam menangkap radikal DPPH yang diukur menggunakan alat spektrofotometri. Metode yang dapat digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH diukur serapan pada panjang gelombang maksimum. Pengujian dilakukan dengan menggunakan ekstrak, fraksi dan isolat konsentrasi 1000 ppm dilakukan pengenceran menjadi larutan dengan lima konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm.

Nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ digunakan untuk menentukan daya antioksidan yang dihitung menggunakan rumus persamaan regresi.

Skala : Rasio

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto yang telah dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto dalam konsentrasi 1000 ppm yang dibuat lima seri konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm.

3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1 Instrumen Penelitian

Instrumen atau alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi spektrofotometri *Uv-Vis*, *sintered glass*, *waterbath*, *rotary evaporator*, timbangan elektrik gram dan milligram (*osuka*), alat-alat gelas (*Pyrex*), cawan, mikropipet, oven (*mommert*), Vortex mixer. Chamber, dan alat penyemprot KLT.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi buah Parijoto yang diperoleh dari kudus, metanol, n-heksan, aquadest, etil asetat, kloroform, serum, asam sulfat pekat, silica, serbuk DPPH, serbuk Mg, kuersetin, HCl pekat, NaOH, H₂SO₄, FeCl₃, asam asetat glacial, dan vitamin C.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Parijoto

Pembuatan Ekstrak metanol Buah Parijoto (EMBP) diawali dengan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi, yaitu buah parijoto yang sudah dikeringkan berwarna ungu usia 3 bulan sebanyak 5 kg, kemudian disortir basah untuk memisahkan buah Parijoto dari kotoran atau bahan asing, dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih, ditiriskan dan dikeringkan dengan diangin-anginkan hingga bebas dari sisa air (Rosahdi *et al.*, 2013). Buah parijoto yang telah dikeringkan dapat diblender. Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol perbandingan (1:10) selama 3x24 jam. Selanjutnya, maserat yang terbentuk diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dimana dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Yulianingtyas & Kusmartono (2016) menyatakan bahwa kandungan senyawa terekstrak meningkat 45% saat suhu dinaikkan dari 30-70°C. Sementara itu, menurut penelitian yang berbeda menyatakan bahwa metanol akan menguap pada suhu 64,5°C (Mariana *et al.*, 2018).

3.5.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Parijoto

3.5.2.1 Identifikasi flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak buah Parijoto dalam metanol panas dan menambahkan 0,1 gr serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Hasil identifikasi

flavonoid menunjukkan warna jingga yang berarti positif adanya flavonoid (Setyowati & Nisa, 2014)

3.5.2.2 Identifikasi saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak kental buah Parijoto dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup kemudian dikocok selama \pm 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit lalu ditambahkan 1 ml HCL 2M. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil (Nugrahani *et al.*, 2016).

3.5.2.3 Identifikasi tanin

Ekstrak ditetesi dengan larutan NaOH. Pembentukan warna kuning intens, yang kemudian memudar saat perubahan larutan asam, menunjukkan adanya tanin (Tiwari *et al.*, 2011).

3.5.2.4 Identifikasi terpenoid

Pada sejumlah 0,5 gram masing – masing ekstrak ditambah 2 mL kloroform, kemudian ditambahkan 3 mL H₂SO₄ untuk membentuk lapisan. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan menunjukkan adanya terpenoid (Nugrahani *et al.*, 2016).

3.5.2.5 Identifikasi glikosida

Sejumlah 0,5 g ekstrak yang diencerkan dengan 5 mL air ditambah dengan asam asetat glasial yang berisi satu tetes larutan FeCl_3 . Kemudian ditambah dengan 1 mL asam sulfat. Terbentuknya cincin coklat pada permukaan mengindikasikan adanya gula deoksi kardeolida (Tiwari *et al.*, 2011).

3.5.3 Fraksinasi

Dilakukan partisi pada ekstrak menggunakan pelarut metanol dan n-heksan. Sejumlah 10 g ekstrak dilakukan pelarutan dengan cara tambahkan 100 ml metanol hingga ekstrak dapat dituangkan kedalam corong pisah. Kemudian tambahkan n-heksan sebanyak 100 ml kedalam corong pisah dan dikocok selama 5 menit sambil sesekali kran pada corong pisah dibuka agar gas yang terbentuk dapat dikeluarkan. Larutan yang terbentuk didiamkan selama beberapa menit hingga bidang batas antara lapisan metanol dan lapisan n-heksan dapat terlihat. Pada bagian atas adalah lapisan n-heksan bersifat non polar sedangkan pada bagian bawah adalah lapisan metanol. Kedua lapisan tersebut dapat dipisahkan dengan cara kran pada corong pisah dibuka perlahan untuk mengambil lapisan metanol, pada lapisan atas yang tertinggal didalam corong pisah diambahkan pelarut n-heksan yang baru dengan nilai perbandingan yang sama dengan sebelumnya. Lakukan partisi dengan cara yang sama hingga pelarut n-heksan terlihat bening (Wijayanti & Lestari, 2018).

3.5.4 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan cara mengamati morfologi tanaman melalui kunci determinasi yang berisi ciri-ciri khas takson tumbuhan. Identifikasi dan determinasi ini dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.

3.5.5 Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak, Fraksi Buah Parijoto

3.5.5.1 Penentuan panjang gelombang

Penentuan panjang gelombang maksimal menggunakan salah satu seri kadar baku quersetin yaitu 1 mg/ml. Larutan uji dibiarkan selama waktu yang sesuai dengan *operating time* setelah dilakukan penambahan aquadest sampai 10 mL, selanjutnya diukur pada panjang gelombang 500 - 600 nm (John *et al.*, 2014).

3.5.5.2 Penentuan *operating time*

Baku quersetin dengan konsentrasi 1 mg/ml yaitu dengan melarutkan 10 mg quersetin dengan penambahan aquadest sampai 10 mL kemudian pengulangan dilakukan pada menit ke- 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 dan 60 menit dengan panjang gelombang maksimum (John *et al.*, 2014).

3.5.5.3 Pembuatan kurva baku quersetin

Baku quersetin ditimbang 10 mg yang kemudian dilarutkan dengan aquadest sampai 10 mL sehingga didapat konsentrasi baku induk 1000 ppm. Deret baku dibuat dengan

cara mengencerkan baku induk sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (1 mL), 80 ppm (0,8 mL), 60 ppm (0,6 mL), 40 ppm (0,4 mL) dan 20 ppm (0,2 mL) yang masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, selanjutnya tambah 0,3 mL NaNO_2 5%, dibiarkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 0,3 mL AlCl_3 10%, setelah didiamkan 5 menit, ditambah 2 mL NaOH 1M dan aquadest sampai volume 10 mL. Deret baku didiamkan sesuai waktu *operating time* dan diukur pada panjang gelombang maksimal (John *et al.*, 2014).

3.5.5.4 Penentuan kadar flavonoid total dalam ekstrak metanol buah parijoto

EMBP dengan masing-masing penyari dilarutkan aquadest, kemudian dipipet sebesar 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambah pelarut add 10 mL. Perlakuan selanjutnya sama seperti perlakuan pada baku quersetin. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai mg equivalen kuersetin dalam setiap gram ekstrak (John *et al.*, 2014).

3.5.6 Isolasi

Pembuatan isolat buah Parijoto dengan metode KLT preparatif menggunakan fase diam plat slika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 20 cm x 20 cm, plat KLT dapat diaktifasi terlebih dahulu dengan cara dipanaskan ke dalam oven suhu 105°C selama 30 menit. Fase gerak

yang n-heksan dan etil asetat perbandingan 5:1. Elusi dapat dihentikan setelah fase gerak bergerak sampai pada garis batas. Hasil elusi akan membentuk pita pada masing-masing nilai Rf nya. Sebelum melakukan pembacaan dibawah sinar UV panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, dilakukan penyemprotan dengan serum sulfat untuk memudahkan pembacaan noda. Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif diambil dengan cara mengerok pita-pita pada plat silica gel yang telah terbentuk kemudian serbuk yang diperoleh disaring dengan cara dilarutkan dengan menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat, kemudian diletakan diatas waterbath suhu 50°C.

3.5.7 Uji Kemurnian Isolat

Uji kemurnian isolat dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, seperti metode KLT dua dimensi, KLT multi eluen, uji titik leleh (Kosman & Tappang, 2012). Pada penelitian ini menggunakan metode KLT multi eluen. Tujuan dari melakukan uji kemurnian isolat adalah untuk memperoleh isolat yang murni dan mengindikasikan bahwa dalam isolat tersebut terbukti hanya ada satu senyawa tunggal. (Juliana *et al.*, 2010).

3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan

3.5.8.1 Pembuatan larutan vitamin C sebagai kontrol positif

Ditimbang 10 mg vitamin C kemudian di tambahkan metanol p.a ke dalam labu 10 ml sampai tanda batas, sehingga akan diperoleh nilai konsentrasi larutan 1000 ppm. Lakukan

pengenceran dari larutan vitamin C menjadi larutan dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm, dengan cara memipet larutan induk masing-masing 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125 dan 0,15 ml menggunakan mikropipet, dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, tambahkan metanol p.a sampai tanda batas.

3.5.8.2 Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

DPPH ditimbang sebanyak 9,8 mg dilarutkan dalam labu ukur 250 ml add metanol p.a. sampai tanda batas. Sehingga diperoleh konsentrasi DPPH 0,1 mM. Selanjutnya labu ukur dilapisi dengan aluminium foil agar terhindar dari cahaya.

3.5.8.3 Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan larutan metanol p.a. 2 ml, dan divortex hingga homogen, lalu dituang ke dalam kuvet, diukur pada panjang gelombang 400-600 nm dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis (Cahyani, 2017).

3.5.8.4 Pembuatan *operating time* larutan DPPH

Penentuan *operating time* larutan DPPH 0,1 mM dilakukan dengan cara mereaksikan 50 µl baku pembanding vitamin C ditambah 4,0 mL larutan DPPH 0,1 mM, dihomogenkan dengan cara divortex selama 1 menit dan diukur absorbansinya pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45,

50, 55, dan 60 pada λ maksimal yang sudah diperoleh (Widyowati *et al.*, 2014).

3.5.8.5 Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak, Fraksi dan Isolat

Sampel yang digunakan adalah ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Ekstrak, fraksi dan isolat masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan menggunakan metanol, kemudian di gojok agar homogen, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk. Selanjutnya, buat larutan seri tiap sampel dibuat dalam konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm, dengan cara memipet larutan induk masing-masing 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, tambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Kemudian, sampel pada masing-masing konsentrasi diambil 1 ml dan ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 3 ml, divortex selama 20 detik kemudian diinkubasi selama 30 menit dan dilakukan replikasi pembacaan spektrofotometri sebanyak 3 kali.

3.5.8.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan (IC_{50} Sampel)

Sampel diukur absorbansinya pada λ maks 517 nm (Islahana, 2017; Kholisah, 2017) Kemudian absorbansi dari sampel larutan DPPH 0,1 mM dibandingkan dengan kontrol. Blanko yang digunakan metanol p.a. Absorbansi adalah

perbandingan intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang. Nilai absorbansi ini akan bergantung pada kadar zat yang terkandung di dalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi semakin besar atau dengan kata lain nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung didalam suatu sampel (Neldawati & Gusnedi, 2013).

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam % inhibisi yang ditentukan melalui persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(1 - \frac{\text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \right) \times 100\%$$

Penentuan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Nilai IC₅₀ diperoleh dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% dari persamaan

$$y = a + bx.$$

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

3.6.1 Tempat

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi FK Unissula, Laboratorium Biologi UNNES.

3.6.2 Waktu

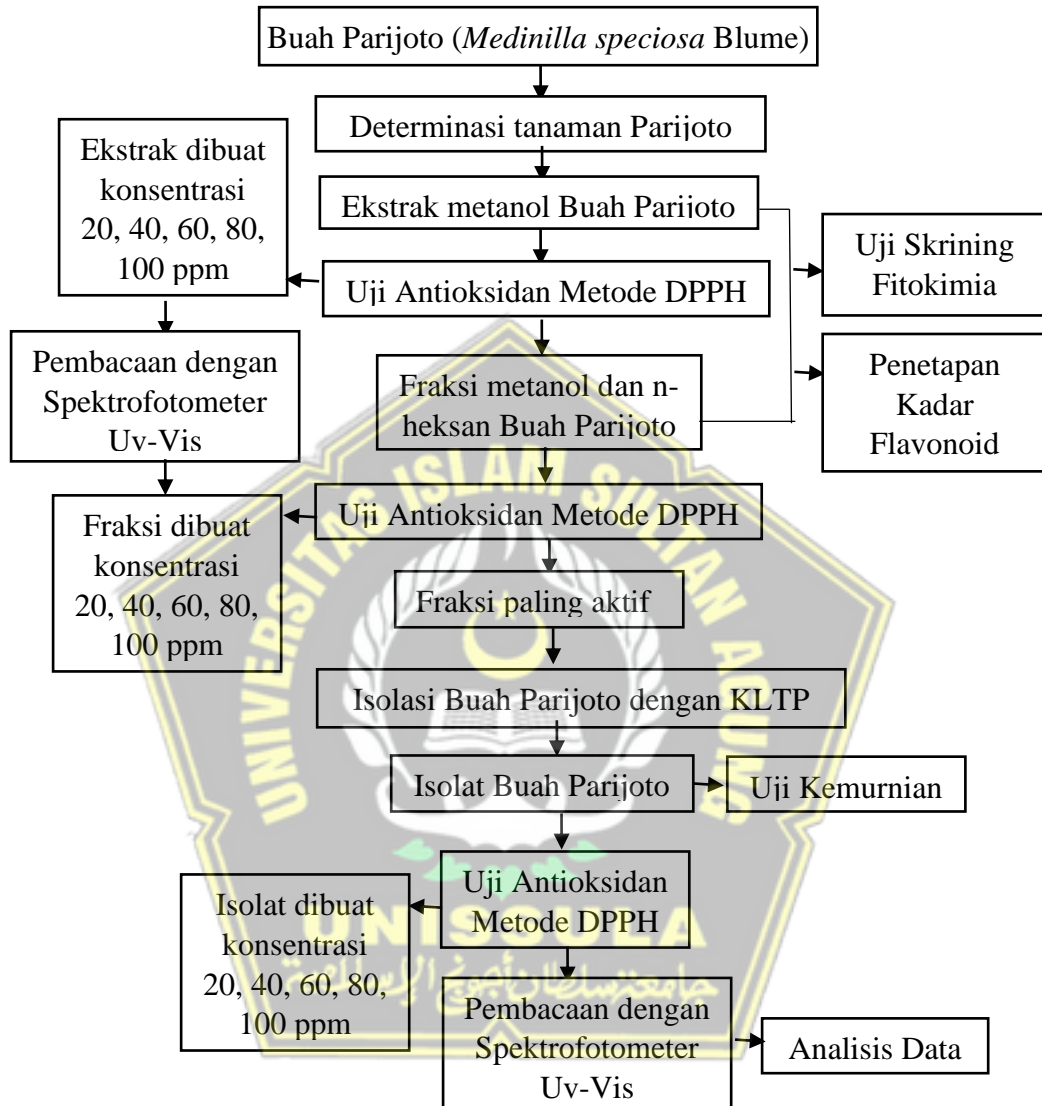
Tabel 3. 1. Waktu Penelitian

No	Jenis Kegiatan	Waktu							
		2 2021	3 2021	4 2021	5 2021	6 2021	7 2021	8 2021	9 2021
1.	Pembuatan proposal								
2.	Penyiapan sampel								
3.	Pembuatan simplisia, ekstraksi & fraksinasi								
4.	Skrining fitokimia, penetapan kadar flavonoid, uji aktivitas antioksidan ekstrak & fraksi								
5.	Isolasi, uji kemurnian & uji aktivitas antioksidan isolat								
6.	Analisis Data								
	Penyusunan naskah akhir								

3.7 Analisis Data

Data hasil dari penentuan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dianalisis dengan analisis statistik. Data dari tiap seri konsentrasi dan kontrol diuji normalitasnya menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitasnya menggunakan *Levene Test*. Setelah dilakukan analisis, diperoleh hasil yang tidak terdistribusi normal, dan tidak homogen. Sehingga dilakukan uji non parametrik yaitu *kruskal wallis*, dan dilanjutkan dengan menggunakan *Mann Whitney*.

3.8 Alur Penelitian



Tabel 3. 2. Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2021 – September 2021 di Laboratorium Terpadu prodi Farmasi Fakultas Kedokteran UNISSULA dan Semarang, Laboratorium Biologi UNNES Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan metode DPPH. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu determinasi tanaman buah Parijoto, ekstraksi, uji skrining fitokimia ekstrak, uji aktivitas antioksidan ekstrak, fraksinasi, uji skrining fitokimia fraksi, uji aktivitas antioksidan fraksi, isolasi fraksi aktif, uji kemurnian isolat, uji aktivitas antioksidan isolat, dan tahap analisis data.

4.1.1. Determinasi Tanaman Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Determinasi tanaman Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Hasil determinasi tanaman diperoleh sebagai berikut, tertuang pada Lampiran 2.

Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Sub Classis	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Familia	: Melastomaceae

Genus	: Medinilla
Species	: <i>Medinilla speciosa</i> (Reinw, ex Bl.) Bl.
Syn	: Medinilla verrucosa (Bl.) Bl.
Vern. Name	: Parijoto

Hasil determinasi tersebut menunjukkan bahwa tanaman Parijoto yang digunakan dalam penelitian ini merupakan spesies *Medinilla speciosa* (Reinw, ex Bl.) Bl. Dengan sinonim *Medinilla verrucosa* (Bl.) Bl.

4.1.2. Rendemen Tanaman Buah Parijoto

Ekstrak kental buah Parijoto diperoleh sebesar 375,28 g dari 5 kg buah Parijoto. Nilai rendemen ekstrak metanol buah Parijoto yang diperoleh adalah sebesar 7,5056 %, sedangkan untuk fraksi n-heksan dan fraksi metanol dari 100 g masing – masing menghasilkan nilai rendemen sebesar 1,0115% dan 2,243% (Lampiran 5).

4.1.3. Pemeriksaan Kadar Air

Pemeriksaan kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisturizer test*. Kadar air ekstrak buah Parijoto yang dihasilkan sebesar 8%, sedangkan untuk fraksi n-heksan dan fraksi metanol masing-masing sebesar 5,47% dan 5,99% (Lampiran 6).

4.1.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan menggunakan analisa kualitatif metode tabung dengan cara mengamati perubahan warna.

Hasil skrinning fitokimia ekstrak metanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol buah Parijoto tersaji pada Tabel 4.1 (Lampiran 6).

Tabel 4. 1 Skrinning Fitokimia Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksan dan Fraksi Metanol Buah Parijoto

Parameter Uji	Ekstrak Metanol	Fraksi n-heksan	Fraksi metanol	Parameter uji Positif jika-
Flavonoid	++	-	+++	Kuning, jingga, merah
Saponin	++	-	++	Terbentuk busa
Tanin	+	-	+	Kuning intensif
Glikosida	+	-	+	Terbentuk cincin coklat
Terpenoid	+	+	-	Terbentuk warna coklat, kemerahan

Keterangan :

- +++ : Memberikan reaksi banyak
- ++ : Memberikan reaksi sedang
- + : Memberikan reaksi sedikit
- : Memberikan reaksi negatif

4.1.5. Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksan dan Fraksi Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Pengukuran kadar senyawa flavonoid ekstrak metanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol buah Parijoto dilakukan dengan metode spektrofotometri Uv-vis menggunakan standar kuersetin. Hasil kadar senyawa flavonoid ekstrak metanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol buah pariijoto tersaji pada Tabel 4.2 (Lampiran 7).

Tabel 4. 2. Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksan dan Fraksi Metanol Buah Parijoto

Sampel	Kadar flavonoid total
Ekstrak Metanol	0,052 mg/g QE
Fraksi n-heksan	0,0134 mg/g QE

Fraksi metanol

0,0188 mg/g QE

4.1.6. Hasil Uji Aktvitas Antioksidan

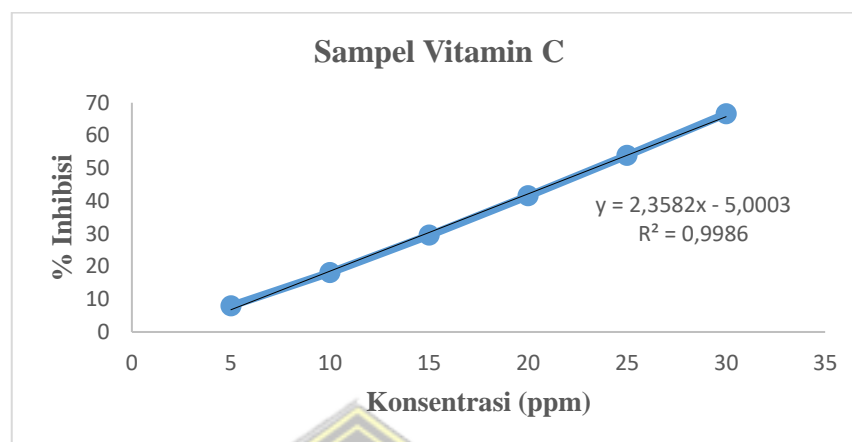
Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak metanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol buah parijoto untuk mengetahui fraksi paling aktif, sebelum dilakukan proses isolasi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C. Hasil aktivitas antioksidan dari vitamin C tersaji pada tabel 4.3, dan gambar kurva aktivitas antioksidan pada vitamin C tersaji pada gambar 4.2. Hasil aktivitas antioksidan dari sampel ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan buah Parijoto tersaji pada tabel 4.4, dan gambar kurva aktivitas antioksidan pada sampel tersaji pada gambar 4.3.

T

a	Sampel	Konsentrasi (ppm) (x)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi (y)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
b		5	0,7032	7,9581	
		10	0,6256	18,1152	
el	Vitamin C	15	0,5388	29,4633	23,32
4.		20	0,4466	41,5576	
		25	0,3522	53,8743	
3.		30	0,2551	66,5968	

Aktivitas antioksidan dari vitamin C

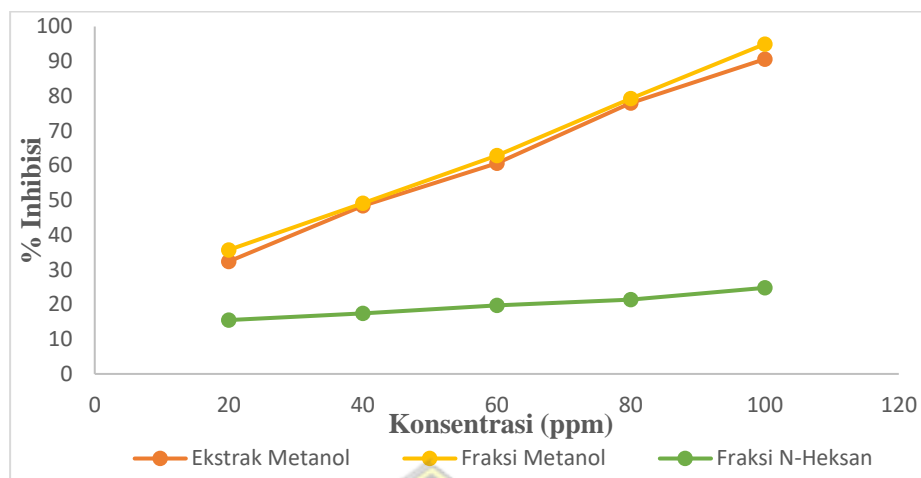
Absorbansi kontrol negatif = 0,7640



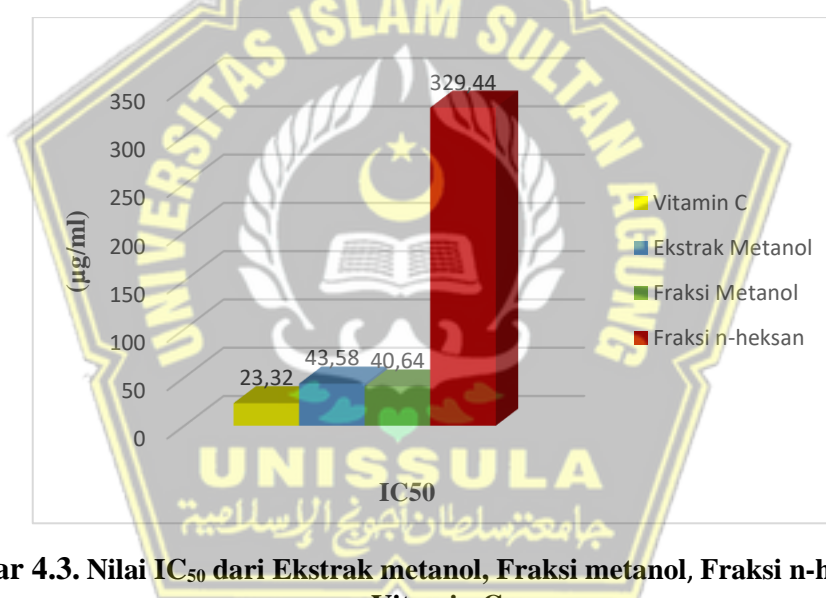
Gambar 4. 1. Kurva Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Tabel 4. 4. Aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi n-heksan

Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi	Persamaan Regresi	IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak Metanol	20	0,5167	32,3647	y = 0,7305x + 18,164 r = 0,9977	43,58
	40	0,3906	48,3508		
	60	0,3004	60,6806		
	80	0,1684	77,9581		
	100	0,0717	90,6097		
Fraksi Metanol	20	0,4913	35,6937	y = 0,743x + 19,799 r = 0,9981	40,64
	40	0,3885	49,1492		
	60	0,2838	62,8664		
	80	0,1589	79,2277		
	100	0,0385	94,9520		
Fraksi N-Heksan	20	0,6455	15,5061	y = 0,1122x + 13,036 r = 0,9848	329,44
	40	0,6306	17,4564		
	60	0,6131	19,7426		
	80	0,6009	21,3438		
	100	0,5747	24,7775		



Gambar 4. 2. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak metanol, fraksi metanol, dan fraksi n-heksan

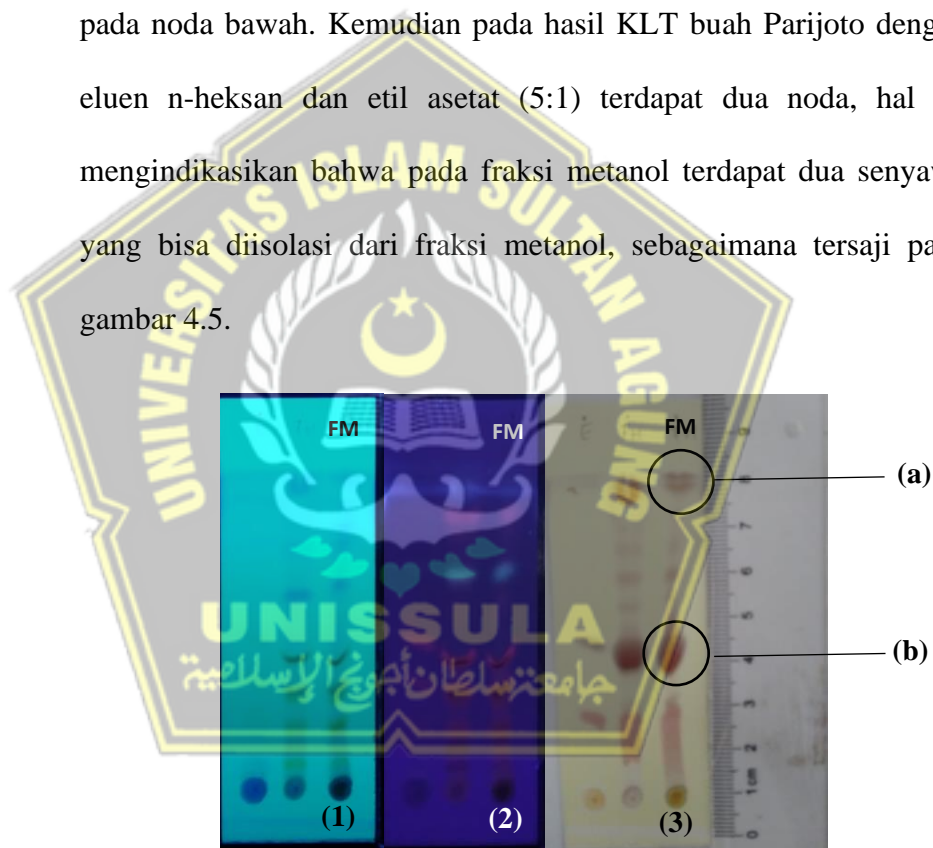


Gambar 4.3. Nilai IC₅₀ dari Ekstrak metanol, Fraksi metanol, Fraksi n-heksan, dan Vitamin C

Dari data pada tabel 4.3, dan tabel 4.4, dibuat grafik hubungan antara konsentrasi sampel serta pembandingan vitamin C dengan persentase aktivitas antioksidan (Gambar 4.2 dan 4.3). Dari Gambar 4.2 dan 4.3 dapat diketahui bahwa seiring dengan kenaikan konsentrasi sampel yang digunakan maka aktivitas antioksidan juga semakin besar.

4.1.7. Proses Isolasi Fraksi Teraktif

Setelah dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap sampel ekstrak metanol, fraksi metanol, dan fraksi n-heksan diperoleh hasil fraksi teraktif terdapat pada fraksi metanol, sehingga proses isolasi dilanjutkan pada fraksi metanol buah Parijoto. Hasil isolasi buah Parijoto menunjukkan nilai R_f 0,87 pada noda atas dan nilai R_f 0,50 pada noda bawah. Kemudian pada hasil KLT buah Parijoto dengan eluen n-heksan dan etil asetat (5:1) terdapat dua noda, hal ini mengindikasikan bahwa pada fraksi metanol terdapat dua senyawa yang bisa diisolasi dari fraksi metanol, sebagaimana tersaji pada gambar 4.5.



Gambar 4.4. Hasil KLT Fraksi Metanol Buah Parijoto Noda Atas (a) dan Noda Bawah (b) dengan Eluen n-Heksan dan Etil Asetat (5:1). (1) UV 254 nm, (2) UV 366 nm, (3) Setelah disemprot cerium sulfat dan dipanaskan

4.1.8. Hasil Uji Kemurnian Isolat

Uji kemurnian senyawa isolat dilakukan dengan menggunakan metode KLT multi eluen seperti yang tersaji pada

gambar 4.5. Pada hasil uji kemurnian, diperoleh isolat mengandung satu senyawa ditunjukkan dengan adanya satu bercak tunggal pada plat KLT berikut:



Gambar 4.5. Hasil Uji Kemurnian Kromatografi Lapis Tipis Multi Eluen pada Isolat Metanol Atas (MA) dan Isolat Metanol Bawah (MB)

- (1) Eluen n-heksan : etil asetat (5:1) Rf 0,50
- (2) Eluen toluena : etil asetat (1:1) Rf 0,75
- (3) Eluen kloroform : etil asetat (1:1) Rf 0,87
- (4) Eluen n-heksan : etil asetat (5:1) Rf 0,50
- (5) Eluen kloroform : etil asetat (2:1) Rf 0,87
- (6) Eluen toluena : etil asetat (4:2) Rf 0,68

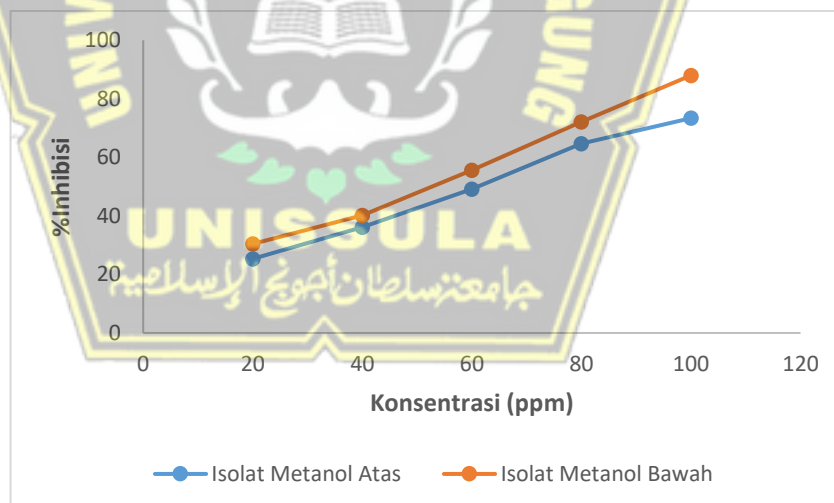
4.1.9. Hasil Aktivitas Antioksidan Isolat dari Fraksi Metanol Buah Parijoto

Setelah dilakukan isolasi dari fraksi metanol diperoleh dua isolat yaitu isolat metanol atas (MA) dan isolat metanol bawah (MB). Kedua isolat tersebut dilakukan uji aktivitas antioksidan untuk menentukan isolat paling aktif sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan metanol tersaji pada tabel 4.6, serta gambar

kurva aktivitas antioksidan isolat metanol atas dan bawah tersaji pada gambar 4.6.

Tabel 4.6. Aktivitas antioksidan dari Isolat Metanol Atas dan Bawah

Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi	Persamaan Regresi	IC ₅₀ (µg/ml)
Isolat Metanol Atas	20	0.5705	25,3272	$y = 0,623x + 12,355$ $r = 0,994$	60,42
	40	0.4877	36,1562		
	60	0.3884	49,1623		
	80	0.2702	64,6335		
	100	0.2033	73,3813		
Isolat Metanol Bawah	20	0.5316	30,4188	$y = 0,735x + 13,157$ $r = 0,9924$	50,12
	40	0.4567	40,2181		
	60	0.3393	55,5890		
	80	0,2133	72,0768		
	100	0.0917	87,9930		



Gambar 4. 6. Kurva Aktivitas Antioksidan Isolat Metanol Atas dan Isolat Metanol, Bawah

4.1.10. Analisis Statistik Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil penelitian ini dilakukan uji analisis statistik, data yang diperoleh diuji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk* dan diuji homogenitasnya menggunakan *Levene Test*. Nilai P pada uji normalitas tersaji pada tabel 4.7.

Tabel 4.7. Nilai p pada Uji Normalitas

Uji Shapiro-Wilk			
Kelompok	Nilai p	Keterangan	
IC50	I	0,229	Distribusi normal
	II	0,307	Distribusi normal
	III	0,094	Distribusi normal
	IV	0,144	Distribusi normal
	V	0,019	Distribusi tidak normal
	VI	0,000	Distribusi tidak normal
	VII	1,000	Distribusi normal

Keterangan

- I = Ekstrak Metanol
- II = Fraksi Metanol
- III = Fraksi n-Heksan
- IV = Isolat Metanol Atas
- V = Isolat Metanol Bawah
- VI = Kontrol Positif Vitamin C
- VII = Kontrol Negatif DPPH

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa tidak semua kelompok memiliki distribusi data yang normal ($p < 0,05$), kemudian dilakukan uji homogenitas. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada (Lampiran 10). Hasil uji homogenitas menggunakan uji *Levene-Test* menunjukkan hasil data yang tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga syarat uji parametrik *One Way Anova* tidak terpenuhi, maka dilakukan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* diperoleh hasil secara keseluruhan dengan nilai $p = 0,003$ atau ($p < 0,05$) pada

Lampiran 10, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada nilai IC₅₀ ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi n-heksan, isolat metanol atas, dan isolat metanol bawah buah Parijoto terhadap nilai IC₅₀ sebagai parameter aktivitas antioksidan yang berbeda signifikan. Berdasarkan hasil tersebut, maka dilakukan analisa selanjutnya yakni analisa *Mann-Whitney* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok. Nilai p pada uji *Mann-Whitney* IC₅₀ tersaji pada tabel 4.8. berikut :

Tabel 4.8. Nilai p Pada Uji *Mann –Whitney*

Kelompok	sig.IC50	sig
Kelompok I dan VII	0,050*	Signifikan
Kelompok II dan VII	0,050*	Signifikan
Kelompok III dan VII	0,050*	Signifikan
Kelompok IV dan VII	0,050*	Signifikan
Kelompok V dan VII	0,050*	Signifikan
Kelompok VI dan VII	0,046*	Signifikan
Kelompok I dan VI	0,046*	Signifikan
Kelompok II dan VI	0,046*	Signifikan
Kelompok III dan VI	0,046*	Signifikan
Kelompok IV dan VI	0,046*	Signifikan
Kelompok V dan VI	0,046*	Signifikan
Kelompok I dan II	0,050*	Signifikan
Kelompok I dan III	0,050*	Signifikan
Kelompok I dan IV	0,050*	Signifikan
Kelompok I dan V	0,050*	Signifikan
Kelompok II dan III	0,050*	Signifikan
Kelompok II dan IV	0,050*	Signifikan
Kelompok II dan V	0,050*	Signifikan
Kelompok III dan IV	0,050*	Signifikan
Kelompok III dan V	0,050*	Signifikan
Kelompok IV dan V	0,050*	Signifikan

Keterangan:

*= terdapat perbedaan signifikan, nilai p <0,05

I = Ekstrak Metanol

II= Fraksi Metanol

III = Fraksi n-Heksan
IV = Isolat Metanol Atas
V = Isolat Metanol Bawah
VI = Kontrol Positif Vitamin C
VII = Kontrol Negatif DPPH



4.2. Pembahasan

4.2.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui dan memastikan kembali hasil taksonomi serta spesies tanaman yang akan digunakan dalam penelitian, sehingga diharapkan dapat menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan data, dikarenakan variasi tanaman dapat memberikan hasil yang berbeda. Tanaman Parijoto yang digunakan untuk determinasi didapatkan dari desa Colo, Kecamatan Ndawe, Kabupaten Kudus. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa benar tanaman Parijoto berasal dari famili Melastomaceae dengan spesies *Medinilla speciosa* (Reinw. ex Bl.) Bl. dengan sinonim *Medinilla verrucosa* (Bl.) Bl.

4.2.2. Ekstraksi Buah Parijoto

Ekstraksi dilakukan menggunakan buah Parijoto yang sudah matang yakni berwarna keunguan dan berusia 3-4 bulan. Semakin tua umur tanaman maka akan semakin berkumpulnya senyawa bioaktif yang ada dalam tanaman tersebut (Bahriul *et al.*, 2014). Buah Parijoto disortir dengan cara diambil buah yang memiliki warna merah keunguan. Buah Parijoto yang telah disortir kemudian dicuci bersih hingga terpisah dengan kotoran – kotoran yang menempel pada buah ataupun benda asing lainnya dan dikeringkan

pada oven suhu 50°C, hal ini bertujuan untuk mengurangi jumlah kotoran dan mikroba yang ada pada tanaman. Suhu pengeringan tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. Semakin panas suhu pengeringan dapat mempengaruhi hasil. Untuk uji aktivitas antioksidan tidak boleh mendapat suhu tinggi dalam pengeringan, karena akan mempengaruhi hasil uji (Prasetyo & Inorih, 2013). Selanjutnya, buah Parijoto sebanyak 250 g diekstraksi menggunakan pelarut metanol 250 mL dengan perbandingan (1:10) dan dimasukkan dalam wadah selama (3x24 jam) (Soemari *et al.*, 2016). Waktu optimal dilakukannya ekstraksi metode maserasi pada 48 jam. Hal ini terbukti dari hasil penelitian bahwa jumlah senyawa metabolit yang terekstrak oleh pelarut lebih banyak dibandingkan dibawah ataupun diatas waktu optimal 48 jam (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016). Pada proses ekstraksi, penggunaan pelarut metanol dipilih karena metanol dapat merusak dinding sel pada sampel sehingga senyawa yang mempunyai sifat polar ataupun non polar akan terlarut dalam metanol, sementara itu metode maserasi dipilih bertujuan untuk menarik senyawa yang diinginkan dari suatu bahan melalui perendaman dalam suatu pelarut organik selama beberapa waktu pada suhu kamar (Ibrahim & Sitorus, 2013). Menurut Koirewoa (2012) ekstraksi dilakukan tanpa proses pemanasan dengan tujuan agar senyawa-senyawa dapat tersari dengan sempurna karena terhindar dari terjadinya dekomposisi.

Proses perendaman sampel sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Koirewoa *et al.*, 2012). Buah Parijoto sebelum dimaserasi harus dihaluskan terlebih dahulu agar luas permukaannya lebih besar dan lebih banyak bagian buah Parijoto yang berkontak dengan pelarut dan penyarian lebih sempurna. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila dibantu dengan pengocokan atau pengadukan agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna (Koirewoa *et al.*, 2012). Pelarut metanol memiliki tingkat kepolaran yang tinggi sehingga dapat menghasilkan senyawa fitokimia yang lebih banyak. Hal tersebut dapat terjadi karena metanol memiliki gugus hidroksil (polar) yang lebih kuat daripada gugus karbon (non polar) (Wachidah, 2013). Selain itu, metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar pada bahan (Salamah & Widyasari, 2015). Metanol adalah salah satu pelarut yang dapat mengekstraksi

semua golongan flavonoid dan juga merupakan salah satu pelarut yang lebih polar digunakan untuk mengekstraksi glikosida flavonoid (Miryanti *et al.*, 2011). Hasil filtrat berupa ekstrak encer dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C. Hal ini dilakukan untuk mengetahui jumlah senyawa yang terlarut dimana pelarut yang digunakan akan menguap yang nantinya akan didapatkan ekstrak (BPOM, 2000). Penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator* ini dilakukan karena tekanan yang diperoleh dari *rotary evaporator* menyebabkan metanol dapat menguap dibawah titik didihnya sehingga suhu yang digunakan tidak terlalu tinggi dan tidak merusak ekstrak yang diperoleh. Ekstrak kering yang didapat kemudian dilakukan uji kadar air menggunakan *moisturizer test*. Penetapan kadar air terhadap ekstrak dilakukan untuk memberi batasan minimal terkait air yang terkandung dalam ekstrak sehingga jika semakin tinggi kandungan kadar air maka semakin mudah untuk ditumbuhi jamur maupun kapang yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas biologis terhadap ekstrak selama dalam penyimpanan (Salim *et al.*, 2016). Jika kadar air yang diperoleh pada ekstrak dibawah 10%, maka proses pengeringan dapat dihentikan (Winangsih *et al.*, 2013). karena pertumbuhan *microorganism* dapat berkurang apabila ekstrak mempunyai kadar air <10% (Prasetyo & Inorihah, 2013). Pada hasil pengecekan kadar air terhadap ekstrak buah Parijoto menunjukkan hasil sebesar 8%, sehingga dapat di simpulkan bahwa ekstrak buah

Parijoto telah memenuhi nilai parameter kadar air ekstrak yakni <math><10\%</math> (BPOM, 2014).

Berdasarkan hasil perhitungan rendemen yang dilakukan dari ekstrak kering buah Parijoto 375,28 g didapatkan hasil rendemen sebesar 7,5056% sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Wachidah (2013) dengan ekstrak kasar buah Parijoto 64 g dihasilkan rendemen sebesar 4,6%. Besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektifan dari proses ekstraksi. Efektivitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia, metode, lamanya proses ekstraksi dan perbandingan jumlah simplisia terhadap jumlah pelarut yang digunakan (Istiqomah, 2013).

4.2.3. Fraksinasi Buah Parijoto

Proses pembuatan fraksi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah, yaitu metode pemisahan senyawa yang didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen akan larut dalam fase pertama sedangkan sebagian larut dalam fase kedua (Hasanah, 2019). Alasan pemilihan metode ini karena pengerjaannya yang relatif sederhana, memiliki selektifitas yang tinggi dalam proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaranya dan memungkinkan dua jenis pelarut yang tidak saling bercampur (Vifta

& Advistasari, 2018). Fraksinasi dilakukan untuk memperoleh senyawa yang pemisahannya lebih spesifik. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi berdasarkan tingkat kepolaranya adalah n-heksan dan metanol. N- heksan digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat non polar dan lemak, sedangkan metanol digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar. Berdasarkan proses ini dapat diketahui bahwa senyawa- senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang bersifat non polar (Irwan, 2017). Alasan melakukan fraksinasi buah parijoto dengan pelarut metanol yang bersifat polar dan n-heksan yang bersifat non polar, dikarenakan Sedangkan fraksi n-heksan buah Parijoto terbukti memiliki senyawa antosianin (Legawati *et al.*, 2020). Sedangkan fraksi metanol buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida yang berperan dalam aktivitasnya sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 46,65 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan nilai IC_{50} pada fraksi n-heksan buah Parijoto 292,44 $\mu\text{g/ml}$ (Wachidah, 2013).

Ekstrak yang telah diperoleh, selanjutnya dipartisi menggunakan dua jenis pelarut yang berbeda seperti pelarut metanol dan n-heksan. Sebanyak 10 g ekstrak dilarutkan dengan 100 mL metanol hingga ekstrak dapat dituang kedalam corong pisah. Ditambahkan sebanyak 100 mL n-heksan kedalam corong pisah

kemudian dikocok selama 5 menit sambil sesekali membuka kran pada corong pisah untuk mengeluarkan gas yang terbentuk. Fraksinasi dilakukan hingga fraksi n-heksan berwarna bening (hampir mendekati warna n-heksan semula) yang mengindikasikan bahwa semua senyawa non polar yang terkandung di dalam ekstrak metanol sudah tertarik ke fraksi n-heksan, seperti pada gambar 4.5 berikut :



Gambar 4. 5. Fraksinasi metanol dan n-heksan buah Parijoto

Fraksinasi dengan pelarut organik yang bersifat non polar seperti n-heksan bertujuan untuk menyari kandungan senyawa-senyawa yang bersifat non polar yang terdapat pada ekstrak, sehingga diharapkan dapat menyederhanakan tahapan proses isolasi selanjutnya. Partisi dilakukan dengan cara yang sama hingga pelarut n-heksan terlihat lebih bening dari sebelumnya, untuk memastikan bahwa lapisan n-heksan tidak tercampur dengan lapisan metanol (Vifta & Advistasari, 2018). Hasil penelitian ini diperoleh fraksi metanol sebanyak 44,86 g, sedangkan fraksi n-heksan sebanyak 20,23 g. Tahap berikutnya adalah dilakukan uji kadar air

menggunakan *moisturizer test*. Hasil pengecekan kadar air pada fraksi metanol sebesar 5,99%, sedangkan pada fraksi n-heksan sebesar 5,47%. Hal ini membuktikan bahwa hasil kadar air fraksi metanol dan fraksi n-heksan buah Parijoto memenuhi syarat nilai parameter kadar air pada ekstrak yakni <10% (BPOM, 2014). Hasil rendemen dari fraksi metanol 44,86 g sebesar 44,86%. sedangkan fraksi n-heksan 20,23 g diperoleh nilai rendemen sebesar 20,23%. Perbedaan nilai rendemen fraksi metanol dengan rendemen fraksi n-heksan menunjukkan adanya perbedaan komposisi fitokimia antara yang dapat terlarut dalam pelarut metanol maupun n-heksan, hal ini seperti prinsip *like dissolves like* dimana senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa non-polar akan mudah larut dalam pelarut non-polar (Mariana *et al.*, 2018).

4.2.4. Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia pada ekstrak maupun fraksi buah Parijoto dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan metode tabung. Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit yang terdapat dalam ekstrak metanol maupun fraksi buah Parijoto. Metode skrining fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan melalui penambahan suatu pereaksi tertentu kemudian dianalisis terjadinya reaksi warna. Terdapat hal penting yang dapat mempengaruhi proses dilakukannya uji skrining fitokimia, yaitu pemilihan pelarut dan metode ekstraksi, dimana pelarut yang tidak

sesuai memungkinkan senyawa target yang diinginkan tidak dapat tertarik secara baik dan sempurna (Vifta & Advistasari, 2018). Skrining fitokimia ekstrak maupun fraksi meliputi pemeriksaan kandungan flavonoid, saponin, glikosida, tanin dan terpenoid. Hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan dengan metode tabung, menggunakan parameter seperti yang tertera pada tabel 4.1, dimana meliputi reaksi banyak yang artinya sampel menunjukkan memiliki kandungan senyawa uji yang banyak, kemudian reaksi sedang yang artinya sampel menunjukkan memiliki kandungan senyawa uji yang sedang, sementara reaksi sedikit artinya sampel menunjukkan memiliki kandungan senyawa uji yang hanya ada sedikit, sedangkan hasil negatif pada uji skrining menunjukkan sampel tidak mengandung senyawa yang diujikan (Wachidah, 2013). Hasil uji skrining fitokimia yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah Parijoto memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, glikosida dan terpenoid. Fraksi metanol positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan glikosida tetapi pada fraksi n-heksan hanya positif mengandung terpenoid, hal ini dikarenakan senyawa-senyawa polar lebih banyak terpartisi kedalam pelarut polar sehingga pada fraksi n-heksan tidak terdapat senyawa-senyawa polar. Hasil skrining fitokimia yang didapat sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wachidah (2013). Hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid, ekstrak buah Parijoto dan

fraksi metanol positif mengandung flavonoid. Hal ini dilihat dari adanya tanda perubahan warna menjadi jingga pada sampel yang telah diberikan pereaksi asam klorida dan magnesium. Hasil tersebut sesuai dengan parameter uji flavonoid bahwa suatu sampel dapat dikatakan positif mengandung senyawa flavonoid apabila terdapat perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga (Fahrurroji & Riza, 2020). Sampel yang mengandung saponin ditunjukkan dengan adanya busa berwarna putih yang masih stabil setelah larutan didiamkan beberapa menit. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi metanol buah Parijoto positif mengandung saponin dengan ditandai busa yang ditambahkan HCl tidak menghilang setelah didiamkan beberapa menit. Hasil tersebut sesuai dengan parameter uji bahwa adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1 - 10 cm, dengan selang waktu ± 10 menit yang stabil (Sulistyarini *et al.*, 2019). Identifikasi tanin dilakukan dengan penambahan larutan NaOH. Adanya pembentukan warna kuning intens pada ekstrak maupun fraksi metanol buah Parijoto yang kemudian memudar saat perubahan larutan asam, membuktikan adanya tanin (Tiwari *et al.*, 2011). Identifikasi senyawa glikosida diketahui dengan terbentuknya cincin coklat yang mengindikasikan adanya gula deoksi kardeolida (Tiwari *et al.*, 2011). Fraksi n-heksan buah Parijoto positif mengandung terpenoid yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi coklat

kemerahan. Hasil tersebut sesuai dengan parameter uji apabila terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan menunjukkan adanya terpenoid (Nugrahani *et al.*, 2016).

4.2.5. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis merupakan alat untuk mengukur transmitansi dan absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Absorbansi dan transmitansi dalam spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif suatu zat kimia. Senyawa yang digunakan sebagai standar adalah quersetin karena quersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada atom C-4 serta adanya gugus hidroksil pada atom C-3. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan dari pengukuran quersetin adalah 438 nm (Azizah & Salamah, 2013). Prinsip penetapan kadar flavonoid adalah adanya reaksi antara flavonoid dengan $AlCl_3$ kompleks berwarna kuning dan dengan adanya penambahan NaOH akan terbentuk senyawa kompleks berwarna merah muda yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm (Nurmila *et al.*, 2019). Kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0916x + 0,0161$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9833. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan quersetin dengan nilai serapan.

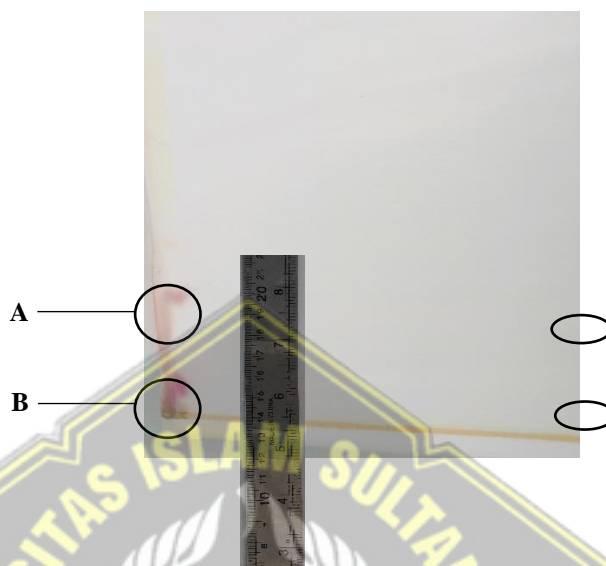
Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam QE (*Quersetin Equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan miligram kuersetin dalam 1 g sampel (Wachidah, 2013). Hasil pengukuran kadar flavonoid total berbagai kelompok ekstrak metanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol buah Parijoto dapat dilihat pada tabel 4.2, dimana hasil kadar flavonoid total terbesar terdapat pada ekstrak metanol sebesar 0,052 mg/g QE, selanjutnya fraksi metanol sebesar 0,0188 mg/g QE, diikuti pada fraksi n-heksan sebesar 0,0134 mg/g QE. Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid lebih tereskrak dari senyawa polar ke non polar.

4.2.6. Isolasi Fraksi Teraktif

Fraksi aktif selanjutnya diisolasi menggunakan KLT preparatif. Pada hasil penelitian diperoleh nilai IC_{50} pada sampel uji yang terendah adalah fraksi n-heksan yaitu sebesar 329,44 $\mu\text{g/ml}$, hasil tersebut menggambarkan bahwa aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan memasuki kategori sangat lemah dengan nilai $IC_{50} > 200$ $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan nilai IC_{50} pada fraksi metanol diperoleh sebesar 40.64 $\mu\text{g/ml}$, sehingga termasuk kedalam rentang kategori sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/ml}$. Oleh karena itu, untuk proses selanjutnya yaitu isolasi senyawa dilakukan pada fraksi metanol yang merupakan fraksi paling aktif sebagai antioksidan. Isolasi senyawa bertujuan untuk memisahkan serta memurnikan senyawa target pada fraksi aktif berdasarkan profil kromatogram dan

perbandingan eluen yang sesuai (Hidayati, 2012). Isolasi menggunakan fase gerak eluen n-heksan : etil asetat (5:1) dimana n-heksan digunakan sebagai eluen yang bersifat non polar dan etil asetat digunakan sebagai eluen yang bersifat semi polar, sedangkan fase diam menggunakan silika gel F₂₅₄ yang bersifat polar, dibuat dengan perbandingan antara komponen polar, semi polar, dan non polar agar terjadi peningkatan polaritas (Syaima, 2015). Pemilihan eluen yang digunakan berdasarkan kemampuan elusi, dan urutan kekuatan elusi beberapa pelarut yaitu air > metanol > etanol > aseton > etil asetat > kloroform > dietil eter > metilen diklorida > benzena > toluena > karbon tetraklorida > heksan > petroleum eter. Selain itu, karena eluen tersebut memberikan gambaran pemisahan senyawa kimia yang baik pada penelitian - penelitian sebelumnya (Paturusi *et al.*, 2014). Sebelum melakukan isolasi dengan KLTP preparatif, plat kaca diaktivasi terlebih dahulu pada oven suhu 105°C selama 30 menit dengan tujuan untuk menghilangkan kandungan air pada plat, karena kandungan air yang terikat pada plat sangat berpengaruh dalam menghambat terjadinya kesetimbangan dengan molekul-molekul analit (Marhamah *et al.*, 2018). Selama proses aktivasi plat, dilakukan penjenuhan chamber menggunakan fase gerak. Penjenuhan chamber bertujuan untuk menyamaratakan tekanan uap dari fase gerak yang digunakan sehingga pemisahan dapat berjalan dengan baik (Dewi *et al.*, 2018). Pada proses isolasi menggunakan

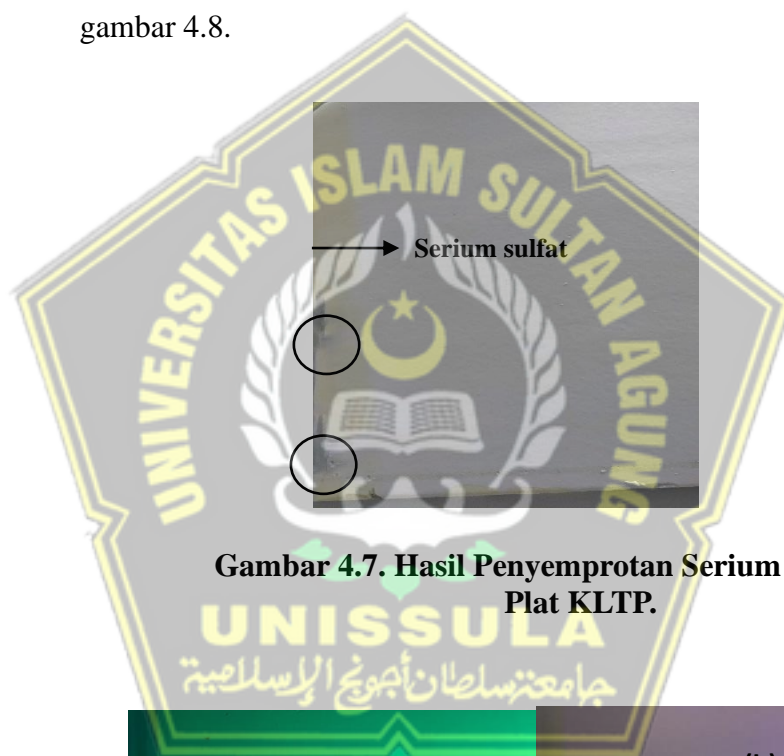
KLTP preparatif, diperoleh hasil berupa pita yang mengandung senyawa, seperti pada gambar 4.6 berikut :



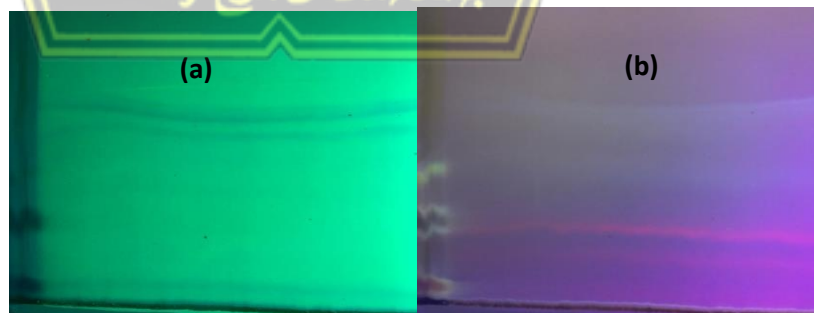
Gambar 4. 6. Hasil pita senyawa Rf Atas (A) dan Bawah (B) pada Fraksi Metanol Buah Parijoto dari Hasil KLTP

Hasil KLTP menunjukkan bahwa noda atas (A) memiliki nilai Rf sebesar 0,87 sedangkan noda bawah (B) memiliki nilai Rf sebesar 0,50. Pita yang dihasilkan sedikit bergelombang. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengaruh fase gerak, ukuran sampel, sifat analit dan adanya kontaminan (Dewi *et al.*, 2018). Pada hasil noda Rf atas plat KLTP bagian pinggir plat menunjukkan adanya perbedaan warna noda dengan Rf bawah. Hal ini kemungkinan disebabkan karena proses pemanasan yang dilakukan kurang optimal, sehingga diperoleh warna noda yang berbeda pada kedua Rf tersebut. Sebelum melakukan pengerokan pita pada hasil isolasi, dilakukan penyemprotan dengan serum sulfat yang berfungsi untuk membantu menampakkan munculnya noda pada plat sehingga dapat

memudahkan pembacaan. Plat yang telah diberi serium sulfat akan tampak noda berwarna kuning seperti yang tersaji pada gambar 4.7, kemudian dilanjutkan dengan pembacaan dibawah sinar UV λ 254 nm dan λ 366 nm, untuk melihat dan memastikan bentuk noda pada hasil isolasi sehingga dalam proses pengerokan isolat bisa disesuaikan pada hasil pembacaan Uv seperti yang tersaji pada gambar 4.8.



Gambar 4.7. Hasil Penyemprotan Serium Sulfat pada Plat KLTP.



Gambar 4.8. Hasil Pembacaan Plat KLTP pada UV λ 254 nm (a) dan λ 366 nm (b).

Setiap pita senyawa masing-masing dikerok dan hasil kerokan dari pita dengan warna dan Rf yang berbeda dipisahkan menjadi isolat metanol atas dan metanol bawah. Selanjutnya isolat dipisahkan dengan cara dilarutkan menggunakan eluen yang sama dengan uji sebelumnya. Cara ini berguna untuk memisahkan campuran antara isolat dan silica, serta zat yang tidak diinginkan sehingga diperoleh isolat yang terbebas dari campuran lain. Sebelum semua isolat dianalisis lebih lanjut, terlebih dahulu diperiksa kemurniannya untuk memastikan bahwa aktivitas antioksidan yang diperoleh berasal dari senyawa yang terkandung dari isolat. KLT multi eluen dipilih karena baik digunakan untuk sampel yang memungkinkan pemisahan analit dengan berdasarkan tingkat polaritas yang berbeda. Fungsi dari dilakukannya uji kemurnian isolat dengan menggunakan fase gerak yang berbeda-beda yakni untuk mengetahui tingkat kemurnian isolat pada beberapa pelarut berdasarkan perbedaan kepolaritasnya. Tujuan menggunakan pemilihan 3 eluen yang berbeda kepolaritasnya pada fase gerak uji kemurnian (Fadillah et al., 2018). Campuran eluen n-heksan : etil asetat (5:1) memiliki sifat kepolaran yang berbeda. N-heksan bersifat non polar, sedangkan etil asetat bersifat semi polar. Hal ini dapat dilihat dari nilai indeks polaritas n-heksan (0,1) dan etil asetat (4,4). Sistem pemisahan yang terjadi pada campuran eluen n-heksan : etil asetat (5:1) adalah fase diam berupa silica yang bersifat polar,

sedangkan fase gerakanya bersifat non polar. Senyawa dengan nilai R_f yang rendah lebih terdistribusi pada fase diamnya yang polar, sedangkan senyawa dengan nilai R_f yang tinggi lebih terdistribusi pada fase gerakanya yang non polar. Campuran eluen ini cenderung bersifat non polar, karena perbandingan n-heksan yang lebih besar dari etil asetat. Hasil uji kemurnian dengan campuran eluen n-heksan : etil asetat (5:1) menunjukkan noda tunggal pada KLT. Sedangkan campuran eluen toluene : etil asetat (1:1), dimana toluene bersifat non polar dengan indeks polaritas (2,4) dan etil asetat bersifat semi polar dengan indeks polaritas (4,4). Campuran eluen ini cenderung bersifat kurang polar, karena perbandingan volume toluene dan etil asetat yang setara. Sementara itu, penggunaan campuran eluen kloroform : etil asetat (2:1) dimana kloroform bersifat non polar dengan indeks polaritas (4,1) sedangkan etil asetat bersifat semi polar dengan indeks polaritasnya yang sebesar (4,4). Campuran eluen ini cenderung bersifat non. Hal ini karena pelarut kloroform memiliki perbandingan volume yang lebih besar dibanding pelarut etil asetat. Kemudian pada (Rahmawati, 2015). Pada Hasil isolasi dengan KLT-Preparatif diperoleh dua noda seperti yang tersaji pada gambar 4.6. Hasil isolasi, diperoleh nilai R_f pada isolat metanol atas sebesar 0,87, nilai R_f dari kedua isolat tersebut baik karena masuk dalam rentang nilai R_f yang baik yaitu 0,2 – 0,8 (Ayu *et al.*, 2020). Setelah didapatkan dua noda, lalu dilanjutkan uji kemurnian isolat

dengan identifikasi menggunakan KLT multi eluen untuk mengetahui hasil apakah noda dari hasil KLT-Preparatif adalah noda tunggal dan mengandung senyawa yang sama (Fadillah *et al.*, 2018). Bercak tunggal menandakan bahwa golongan senyawa dari isolat yang diperoleh merupakan golongan komponen senyawa kimia yang tunggal (Kosman & Tappang, 2012). Pada KLT multi eluen, digunakan fase gerak n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (5:1). Hasil uji kemurnian seperti yang terlihat pada gambar 4.1 terbukti bahwa masing-masing isolat menghasilkan bercak tunggal. Hasil penelitian menunjukkan nilai R_f yang berbeda pada masing-masing plat seperti yang tersaji pada gambar 4.5. Hasil randemen dari isolat metanol atas 0,25 g diperoleh nilai rendemen sebesar 0,625%, dan isolat metanol bawah 0,1416 g sebesar 0,354%,

4.2.7. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi n-Heksan dan Isolat Metanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan *bioassay guided isolation*. *Bioassay guided isolation* merupakan isolasi melalui pendekatan fitokimia diawali dengan mengisolasi senyawa bahan alam dengan metode tertentu. Penelitian ini dibagi menjadi 7 kelompok dimana kelompok I merupakan kelompok ekstrak metanol, kelompok II yaitu kelompok fraksi metanol, kelompok III yaitu kelompok fraksi n-heksan, kelompok IV yaitu

kelompok isolat metanol atas, kelompok V yaitu kelompok isolat metanol bawah, kelompok VI yaitu kelompok kontrol positif vitamin C, dan kelompok VII yaitu kelompok kontrol negatif DPPH. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara kuantitatif menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dikarenakan metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk menentukan aktivitas antioksidan (F. Setiawan *et al.*, 2018). Selain itu, DPPH merupakan radikal yang lebih stabil (Faisal, 2019). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimal yaitu panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi maksimal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa radikal bebas DPPH stabil dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis (Souhoka *et al.*, 2019).

Sampel yang akan diuji aktivitas antioksidan terlebih dahulu diinkubasi selama 30 menit karena selama jangka waktu tersebut diperkirakan telah terjadi reaksi yang sempurna antara sampel dan DPPH. Hasil pengujian tiap sampel menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi sampel maka absorbansi sampel akan menurun dan nilai tingkat inhibisi akan semakin tinggi. Nilai inhibisi berbanding lurus dengan semakin tingginya konsentrasi dari sampel maka nilai tingkat inhibisi DPPH juga semakin besar, sehingga hasil absorbansi semakin kecil. Hal ini terjadi karena adanya kemampuan

suatu sampel untuk meredam radikal bebas, dengan demikian semakin besar konsentrasi sampel dapat menghasilkan nilai absorbansi sampel yang semakin menurun (Rohimat *et al.*, 2014). Penurunan nilai absorbansi sampel dikarenakan oleh elektron sampel yang mengakibatkan intensitas warna dari radikal DPPH, sehingga mengalami pemudaran yaitu dari warna ungu pekat menjadi kuning pucat yang menandakan bahwa senyawa radikal bebas telah tereduksi oleh adanya antioksidan. Pembacaan absorbansi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi agar dapat diperoleh nilai absorbansi. Tujuan dilakukannya replikasi sebanyak 3 kali yaitu untuk mengoptimalkan terjadinya kesalahan dalam analisa sampel dan pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas (Anton *et al.*, 2021).

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian antioksidan, kontrol dimaksudkan untuk menguji validitas suatu metode (membandingkan hasil penelitian dengan penelitian lain yang telah dilakukan), sehingga penggunaan kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ini untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada sampel jika dibandingkan dengan vitamin C. Sedangkan yang dimaksud dengan pembanding yaitu dikarenakan vitamin C merupakan antioksidan yang umum serta bersifat sebagai reduktor yang kuat (Widyasanti *et al.*, 2016). Hal ini karena vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas, sehingga dapat meningkatkan

aktivitas antioksidan (Isnindar *et al.*, 2011). Efektivitas suatu sampel untuk menangkal radikal bebas dari metode DPPH dinamai dengan IC₅₀. Pengertian dari IC₅₀ adalah konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Widyasanti *et al.*, 2016). Apabila nilai IC₅₀ sampel sama atau mendekati nilai IC₅₀ kontrol positif maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan (M. A. Setiawan *et al.*, 2019). Hasil pengukuran vitamin C pada tabel 4.3 diperoleh persamaan regresi linier $y = 2,3582x - 5,0003$ dengan nilai koefisien korelasi 0,9986. Koefisien y pada persamaan ini adalah sebagai % inhibisi, sedangkan koefisien x pada persamaan ini adalah konsentrasi sampel yang akan dicari nilainya, dimana nilai x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Sedangkan nilai r yang diperoleh apabila mendekati 1 menggambarkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan terdapat linieritas hubungan antara konsentrasi vitamin C dengan hasil absorbansinya (Wardi *et al.*, 2019). Pada hasil diperoleh nilai IC₅₀ Vitamin C sebesar 23,32 $\mu\text{g/mL}$, menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$. Perbandingan nilai IC₅₀ dari vitamin C dengan nilai IC₅₀ dari ekstrak metanol sebesar 43,58 $\mu\text{g/ml}$, fraksi metanol sebesar

40,64 $\mu\text{g/mL}$, dimana nilai IC_{50} tersebut termasuk didalam range <50 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dikatakan sangat kuat. Sementara itu, pada isolat metanol bawah sebesar 50,12 $\mu\text{g/mL}$ dan isolat metanol atas sebesar 60,42 $\mu\text{g/mL}$ dimana nilai IC_{50} tersebut termasuk didalam range 50-100 $\mu\text{g/mL}$ masuk kedalam rentang kuat. Kemudian pada fraksi n-heksan sebesar 329,44 $\mu\text{g/mL}$ dimana nilai IC_{50} tersebut termasuk didalam range >200 $\mu\text{g/mL}$ sehingga masuk kedalam rentang yang sangat lemah. Perbandingan nilai IC_{50} tersebut menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan yang berbeda antara perbandingan dengan sampel. Perbedaan ini dapat disebabkan karena kontrol positif yang digunakan merupakan senyawa murni sehingga didalamnya tidak ada senyawa lain yang dapat mengganggu proses peredaman radikal bebas. Diketahui jika Senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} antara 100-150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah apabila nilai IC_{50} antara 150-200 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} 200-1000 $\mu\text{g/mL}$ dinyatakan maka zat tersebut kurang aktif namun berpotensi sebagai antioksidan (Ferdinan & Prasetya, 2018). Hasil perhitungan nilai IC_{50} masing-masing sampel menunjukkan bahwa fraksi metanol buah Parijoto mempunyai nilai IC_{50} yang lebih kecil dari ekstrak metanol, fraksi n-heksan, isolat metanol atas dan isolat metanol bawah buah Parijoto, sehingga dapat dikatakan bahwa antara kelompok kontrol dengan

kelompok sampel yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} terbaik adalah tetap pada kelompok kontrol positif vitamin C.

Analisis statistik menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna. Perbedaan bermakna terdapat antara kelompok I, II, III, IV, V dan VI dibandingkan dengan kelompok VII (kontrol negatif) $p=0,050$. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang bermakna pada semua kelompok, sehingga dapat dikatakan bahwa seluruh sampel memiliki aktivitas antioksidan, karena terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Perbedaan bermakna juga terdapat antara kelompok I, II, III, IV, V dan VII dibandingkan dengan kelompok VI (kontrol positif) $p=0,046$, yang mana menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh sampel belum setara dengan kontrol positif. Hasil analisis antara kelompok I (ekstrak metanol) dengan kelompok II (fraksi metanol), kedua kelompok tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, dimana aktivitas antioksidan paling tinggi pada kelompok II (fraksi metanol). Hal ini dikarenakan pada kelompok I (ekstrak metanol) masih terdapat berbagai kelompok senyawa metabolit sekunder yang bercampur, sehingga kemungkinan senyawa aktif bekerja lebih kuat ketika dalam bentuk polaritasnya yang sesuai dengan kelarutan senyawa metabolit sekunder seperti pada kelompok II (fraksi metanol), dimana dalam fraksi terdapat kandungan

senyawa aktif yang dipisahkan berdasarkan perbedaan kepolaran masing-masing senyawa tersebut. Senyawa antioksidan yang aktif diduga adalah golongan flavonoid. Senyawa dengan sifat polar yang diduga termasuk kedalam kelompok flavonoid memiliki aktivitas lebih baik dalam bentuk kelarutannya (Werdyani *et al.*, 2019). Sementara itu, hasil analisis antara kelompok I (ekstrak metanol) jika dibandingkan dengan kelompok III (fraksi n-heksan) menunjukkan perbedaan yang bermakna, dimana aktivitas antioksidan yang paling tinggi terdapat pada kelompok I (ekstrak metanol). Hal ini karena, pada kelompok I (ekstrak metanol) memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar sedangkan pada kelompok III (fraksi n-heksan) terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar, sehingga diduga bahwa aktivitas antioksidan berasal dari senyawa yang bersifat polar, flavonoid dapat berikatan dengan gula sebagai glikosida, sehingga flavonoid yang bersifat polar dapat larut pada pelarut polar (Gazali & Nufus, 2019). Oleh karena itu, antara kelompok I dan kelompok III yang memiliki nilai IC_{50} terbaik adalah kelompok I (ekstrak metanol). Hasil tersebut telah sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wachidah (2013) yang menyatakan fraksi metanol memiliki pengaruh signifikan lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok ekstrak metanol, dan fraksi n-heksan buah Parijoto (Wachidah, 2013).

Nilai IC₅₀ terkecil berarti aktivitas antioksidan terbesar pada buah Parijoto terdapat pada fraksi metanol. Metanol memberikan pengaruh aktivitas yang tinggi sebagai antioksidan dalam menetralkan radikal bebas, hal ini terjadi karena metanol merupakan pelarut polar dan fenol bersifat polar sehingga metanol mampu melarutkan fenol lebih baik dari pelarut lainnya yang non polar, hal ini berkaitan terhadap banyaknya komponen bioaktif yang larut didalamnya. Hasil ini juga didukung dengan uji skrining fitokimia, dimana fraksi metanol positif mengandung senyawa flavonoid. Menurut Adawiah (2015) menyatakan bahwa tingginya kandungan flavonoid juga berkaitan dengan tingginya kandungan fenolik dalam sari buah tanaman, hal ini karena flavonoid merupakan subset dari senyawa fenolik (Adawiah *et al.*, 2015). Flavonoid merupakan senyawa yang berperan penting dalam memberikan rasa dan warna pada buah dan sayur. Flavonoid bertindak sebagai antioksidan dikarenakan memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas dan menstabilkan senyawa oksigen reaktif (ROS) serta memiliki gugus keton hidroksil yang dapat bertindak sebagai pengkelat logam yang menjadi katalis pada peroksidasi lipid (Rezaeizadeh *et al.*, 2011). Oleh sebab itu, semakin tinggi kandungan total fenol dan flavonoid dari suatu sampel maka semakin banyak radikal DPPH yang bereaksi sehingga konsentrasinya semakin berkurang, semakin besar penurunan

konsentrasi DPPH semakin rendah nilai IC_{50} dan aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Fermanasari *et al.*, 2016).

Hasil analisis antara kelompok I (ekstrak metanol), kelompok IV (isolat metanol atas) dan kelompok V (isolat metanol bawah) terdapat perbedaan yang signifikan, dimana aktivitas antioksidan antara kelompok I (ekstrak metanol), kelompok IV (isolat metanol atas), dan kelompok V (isolat metanol bawah) yang memiliki aktivitas tertinggi terdapat pada kelompok I (ekstrak metanol). Hal ini, dikarenakan pada kelompok IV (isolat metanol atas) dan kelompok V (isolat metanol bawah) memiliki senyawa yang bersifat tunggal dan lebih murni, sehingga diduga senyawa yang berperan dalam aktivitasnya sebagai antioksidan tidak sebanyak pada kelompok I (ekstrak metanol) yang memiliki banyak kandungan senyawa metabolit sekunder. Kemudian, hasil analisis berikutnya antara kelompok II (fraksi metanol) jika dibandingkan dengan kelompok IV (isolat metanol atas) dan kelompok V (isolat metanol bawah) juga terdapat perbedaan yang signifikan, dimana aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari kelompok II (fraksi metanol). Hal ini karena pada (fraksi metanol) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih dari satu, seperti yang tertera pada hasil uji kualitatif dengan skrining fitokimia, sedangkan pada kelompok IV (isolat metanol atas) bersifat tunggal, sehingga diduga hanya memiliki 1 senyawa. Oleh karena itu, pada fraksi lebih sinergi

dalam aktivitasnya sebagai antioksidan. Kemudian, hasil analisis berikutnya kelompok IV (isolat metanol atas) jika dibandingkan dengan kelompok V (isolat metanol bawah) juga terdapat perbedaan yang signifikan, dimana aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari kelompok V (isolat metanol bawah). Hal ini karena pada (isolat metanol bawah) memiliki nilai Rf yang lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai Rf (isolat metanol atas), sehingga aktivitasnya sebagai antioksidan lebih besar pada kelompok V (isolat metanol bawah).

Uji aktivitas antioksidan terhadap buah Parijoto telah dilakukan oleh Wachidah (2013) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan terbaik dari buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 20,43 µg/ml dari fraksi etil asetat, 46,65 µg/ml dari fraksi metanol dan sebesar 48,24 µg/ml dari ekstrak metanol buah Parijoto. Ketiga sampel tersebut memasuki rentang parameter antioksidan yang sangat kuat. Sedangkan pada hasil fraksi n-heksan buah Parijoto masuk kedalam rentang parameter antioksidan yang sangat lemah. Hal ini karena, tingkat kepolaran pelarut sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang diperoleh, sehingga hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh dari pelarut polar jauh lebih tinggi dibandingkan pelarut semi polar, dan non polar (Purwanto *et al.*, 2017). Fraksi n-heksan termasuk kurang aktif namun berpotensi sebagai antioksidan. Hal ini dikarenakan

sampel merupakan buah yang sedikit mengandung senyawa non polar (Wachidah, 2013).

Nilai IC_{50} yang dihasilkan dari isolat metanol atas yakni sebesar 60,42 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan isolat metanol bawah sebesar 50,12 $\mu\text{g/mL}$. Adanya perbedaan hasil pada kedua isolat metanol dikarenakan adanya perbedaan nilai Rf pada pita isolat metanol atas dan bawah. Semakin kecil nilai Rf maka diindikasikan bahwa senyawa dari bercak tersebut memiliki kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan dengan bercak yang memiliki nilai Rf lebih besar. Hal ini, dikarenakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalamnya lebih terikat pada fase diam yang bersifat polar dibandingkan pada fase geraknya. Sedangkan bercak yang memiliki nilai Rf lebih besar dapat diindikasikan bahwa kepolarannya lebih kecil. Hal ini disebabkan adanya senyawa yang terdapat pada bercak tersebut lebih terikat pada fase gerak yang bersifat non polar (Fatati, 2014). Terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok isolat metanol atas dan bawah, dimana aktivitas antioksidan yang lebih besar adalah isolat metanol bawah. Hal ini, dikarenakan senyawa flavonoid sebagai antioksidan lebih banyak tersari pada semi polar ke polar (Wachidah, 2013). Apabila dibandingkan antara hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak, fraksi dan isolat yang memiliki urutan aktivitas terbesar adalah pada fraksi metanol > ekstrak metanol > isolat metanol bawah > isolat metanol atas > fraksi n-

heksan. Pada kelompok sampel, yang memiliki nilai IC_{50} paling mendekati dengan nilai IC_{50} kontrol positif vitamin C adalah kelompok sampel fraksi metanol sebesar 40,64 $\mu\text{g/mL}$. Apabila nilai IC_{50} sampel sama atau mendekati nilai IC_{50} kontrol positif maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan (Widyowati *et al.*, 2014). Kelompok sampel fraksi metanol paling aktif jika dibandingkan dengan kelompok sampel lainnya, hal ini karena pada fraksi metanol memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih dari satu, seperti yang tertera pada hasil uji kualitatif dengan skrining fitokimia, sehingga kandungan senyawa yang lebih banyak diduga lebih sinergi berpotensi dalam aktivitasnya sebagai antioksidan.

Keterbatasan pada penelitian ini adalah belum dilakukan identifikasi struktur senyawa dengan metode GC-MS, spektrofotometri IR, dan spektrofotometri NMR pada isolat buah Parijoto.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

5.1.1. Dari lima kelompok sampel ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto memiliki aktivitas sebagai antioksidan, dan aktivitas paling tinggi adalah kelompok sampel fraksi metanol.

5.1.2. Kadar % inhibisi dan nilai IC₅₀ dari ekstrak, fraksi dan isolat buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) secara berturut-turut adalah 61,9927%, 64,3778%, 19,7652%, 49,7321%, dan 57,2591%, sedangkan nilai IC₅₀ berturut-turut adalah 43,58 µg/ml, 40,64 µg/ml, 329,44 µg/ml, 60,42 µg/ml, dan 50,12 µg/ml.

5.2. Saran

5.2.1. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan terkait elusidasi struktur dalam rangka penentuan struktur yang terdapat dalam isolat buah Parijoto, sehingga dapat dilakukan pengembangan obat lebih lanjut dalam peningkatan efektivitas farmakologis.

5.2.2. Untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji aktivitas antioksidan buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B) secara in-vivo

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, Sukandar, D., & Muawanah, A. (2015). The Activity of Antioxidant and Bioactive Component from Namnam Extract. *Journal of Valence Chemistry*, 1(2), 130–136.
- Aina, M., & Suprayogi, D. (2010). Uji Kualitatif Vitamin C Pada Berbagai Makanan Dan Pengaruhnya Terhadap Pemanasan. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 287.
- Anton, N., Yudistira, A., & Siampa, J. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Ianthella* Basta Dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen Kabupaten Minahasa Tenggara. *Pharmacon*, 10(1), 713. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32759>
- Atun, S. (2014). Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya*, 8(2), 53–61. <https://doi.org/10.33374/jurnalkonservasicagarbudaya.v8i2.132>
- Ayu, S. A., Pratiwi, L., & Nurbaeti, S. N. (2020). Uji kualitatif senyawa fenol dan flavonoid dalam ekstrak n-heksan daun senggani (*Farmasi Fakultas Kedokteran Untan Pontianak*, 1–6).
- Azizah, B., & Salamah, N. (2013). Standarisasi Parameter Non Spesifik Dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Pharmaciana*, 3(1). <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v3i1.416>
- Badriyah, L., & Manggara, A. B. (2015). Penetapan Kadar Vitamin C Pada Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Wiyata*, 2(1), 25–28.
- Bahriul, P., Rahman, N., & Diah, A. W. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 368–374.
- BPOM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* (pp. 3–68).
- BPOM. (2014). Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. *Bpom Ri*, 1–25.
- Cahyani, A. i. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Dengan Metode Dpvh (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Skripsi : UIN Syarif Jakarta.
- Claude, A., & Piantadosi. (2008). Carbon Monoxide, Reactive Oxygen Signaling, And Oxidative Stress. *Joournal Free Radical Biology and Medicine*, 45(5),

562–569. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.05.013>

- Dewi, N. L. A., Adnyani, L. P. S., Pratama, R. B. R., Yanti, N. N. D., Manibuy, J. I., & K., W. N. (2018). Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*L. Urban*). *Jurnal Farmasi Udayana*, *eISSN*(2), 68–76.
- Djadjanegara, I., & Wahyudi, Pp. (2010). Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Herba Ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap Sel T47D secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *8*(1), 41–47. <http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/jifi/article/view/365>
- Fadillah, F., Farmasi, P. S., Farmasi, F., & Hasanuddin, U. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Kimia Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia J.*) 1–29.
- Fahrurroji, A., & Riza, H. (2020). Karakterisasi Ekstrak Etanol Buah *Citrus amblycarpa* (L), *Citrus aurantifolia* (S.), dan *Citrus sinensis* (O.). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *7*(2), 100. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v7i22020.100-113>
- Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L . Moench) Dengan Metode DPPH (1 , 1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS. *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, *2* (1), 1–5.
- Fatati, A. (2014). Potensi Antimalaria Kombinasi Ekstraksi Etanol Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) dan Artemisin pada Mencit Terinfeksi Plasmodium berghei serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*, 1–158.
- Ferdinan, A., & Prasetya, A. B. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Jantung Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) Pontianak. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, *3*(1), 88–96.
- Fermanasari, D., Zahara, T. A., & Wibowo, M. A. (2016). Uji Total Fenol, Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksitas Daun Akar Bembak (*Ipomoea Sp.*). *5*(4), 68–73.
- Firdaus, I., Retnowati, R., & Sutrisno. (2015). Fraksinasi Ekstrak metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) Dengan Pelarut n-Butanol. *Kimia Student Journal*, *1*(1), 785–790.
- Gazali, M., & Nufus, H. (2019). Eksplorasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) Asal Pesisir Aceh Barat sebagai Antioksidan. *JPHPI*, *22*(1), 155–163.
- Hasanah, M. (2019). Aktivitas Antineuroinflamasi Fraksi N-butanol Daun Semanggi (*Marsilea crenata* C . Presl) Secara In Vitro Pada Sel Mikroglia HMC3 m. *Skripsi .UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*, 40–41. <http://etheses.uin-malang.ac.id/14347/1/15670011.pdf>

- Hasbullah, U. H., Pertiwi, R. B., Hidayah, I. N., & Andriyanti, D. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Parijoto Pada Berbagai Ph Pengolahan Pangan. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 4(2).
- Hidayah, N., Purwanto, Djoko, A., & Isnaeni. (2018). Penapisan Aktivitas Antioksidan Kombinasi Yogurt dan Jus Tomat Dibandingkan Vitamin C. *Airlangga*, 4(031), 2018.
- Hidayati, N. (2012). Isolasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Antifungal p-Methoxybenzylidene p-aminophenol Dari Akar *Acacia mangium* [Isolation And Concentration Determination Of Antifungal Compound P-Methoxybenzylidene P-Aminophenol From Acacia Mangium Root] Penyakit tanaman da. *Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(2), 117–130.
- Ibrahim, S., & Sitorus, M. (2013). Teknik Laboratorium Kimia Organik. In *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952.
- Indrisari, M., Rahimah, St., Umar, A. H dan Allyah, A. P. (2013). Uji Efek Afrosidiaka dari Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) pada Hewan Coba Mencit (*Mus musculus*). *Akademi Farmasi Kebangsaan*, 2, 140–144.
- Irwan, A. S. (2017). Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Terhadap Bakteri Patogen. *Skripsi UIN Alauddin Makassar.*, 4, 9–15.
- Isnindar, Wahyuno, S., & Setyowati, E. P. (2011). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* Thunb .) Dengan Methodedpph (2 , 2-Difenil-1- Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 161–169. <https://jurnal.ugm.ac.id/TradMedJ/article/view/8054/6245>
- Istiqomah. (2013). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti* fructus). In *UIN Syarif Hidayatullah*.
- John, B., Sulaiman, C. T., George, S., & Reddy, V. R. K. (2014). Total phenolics and flavonoids in selected medicinal plants from Kerala. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 406–408.
- Juliana, V. A., Aisyah, S., & Mustapha, I. (2010). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Turunan Terpenoid Dari Fraksi N-Heksan *Momordica charantina* L. *Jurnal Sains Dan Teknologi Kimia*, 1(1), 88–93.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, & Wiyono, W. I. (2012). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon*, 1(1), 47–52.
- Kosman, R., & Tappang, K. (2012). Isolasi Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Dietil Eter Daun Beruwat Laut (*Scaevola taccada* (Gaertn.) Roxb.) Asal Kabupaten Pinrang (Sulawesi Selatan). *As-Syifaa*, 04(02), 219–227.

- Legawati, H. E., Kunarto, B., & Sani, Y. (2020). Fraksinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinella speciosa* L.) Dan Stabilitas Antosianinnya Pada Berbagai Lama Pemanasan. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian Universitas Semarang*.
- Marhamah, E., Sitotoksisitas, U. J. I., Etanol, E., Kanker, T. S. E. L., & Mtt-, M. (2018). Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Manilkara zapota Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Secara In Vitro Dengan Metode MTT-Assay.
- Mariana, E., Cahyono, E., Rahayu, E. F., & Nurcahyo, B. (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Jurnal Ilmu Kimia Indonesia*, 7(3), 277–284.
- Mariani, E., Polidori, M. C., Cherubini, A., & Mecocci, P. (2005). Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: An overview. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 827(1), 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.04.023>
- Miryanti, Y. A., Sapei, L., Budiono, K., & Indra, S. (2011). Ekstraksi Antioksidan Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Research Report - Engineering Science*, 2, 1–55. <https://doi.org/Bandung:UniversitasKatolikParahyangan>
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal of Pharmacy*, 7(2), 361.
- Neldawati, & Gusnedi, R. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*, 2, 76–83.
- Ningsih, W., Firmansyah, F., & Fitri, H. (2016). Formulasi Masker Peel Off dengan Beberapa Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis* (F.A.C Weber) Britton & Rose). *Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 6(1), 18. <https://doi.org/10.36434/scientia.v6i1.37>
- Nishanthini, a, Ruba, a A., & Mohan, V. R. (2012). Total Phenolic , Flavonoid Contents And In Vitro Antioxidant Activity Of Leaf Of Suaeda Monoica Forssk Ex . Gmel (*Chenopodiaceae*) International Journal Of Advanced Life Sciences (IJALS). *International Journal of Advanced Life Sciences*, 5(1), 34–43.
- Nisma, F., Situmorang, A., & Syarif, A. K. (2011). Pengaruh Suhu Dan Waktu Perendaman Terhadap Pengurangan Kadar Formaldehid Dalam Wadah Peralatan Makan Melamin Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Seminar Hasil Riset UHAMKA*, 1–17.
- Niswah, L. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan*

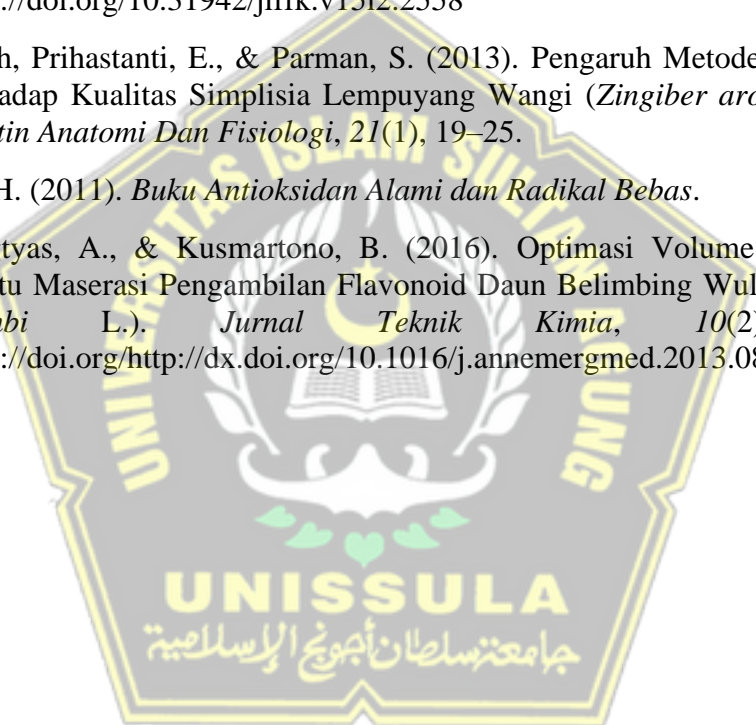
Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, September, 12–54.

- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*, 2(1), 96–103. <http://www.esciencecentral.org/journals/minimum-inhibitory-and-bactericidal-concentrations-mic-2327-5162-3-171.php?aid=32968>
- Nurmila, N., Sinay, H., & Watuguly, T. (2019). Identifikasi Dan Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Getah Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) Di Dusun Wanath Kecamatan Leihitu Kabupaten Maluku Tengah. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan Dan Terapan*, 5(2), 65–71. <https://doi.org/10.30598/biopendixvol5issue2page65-71>
- Onkar, P., Bangar, J., & Karodi, R. (2012). Evaluation Of Antioxidant Activity Of Traditional Formulation Giloy Satva And Hydroalcoholic Extract Of The *Curculigo orchioides* Gaertn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 209–213. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2012.2733>
- Pakaya, D. (2014). Peranan Vitamin C Pada Kulit. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, 1(2), 45–54. <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/MedikaTadulako/article/view/7932/6271>
- Paturusi, A. A. E., Nurafianty, Rusli, & Rahim, A. (2014). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Ekstrak N-Heksan Daun Jati (*Tectona grandis* L.F). *Jf Fik Unam*, 2(1), 18–23.
- Prasetyo, & Inorah, E. (2013). Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Siplisia). In *Perpustakaan Nasional Ri: Katalog Dalam Terbitan* (pp. 1–85).
- Pujiastuti, E., & Saputri, R. S. (2019). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). *Journal of Chemical Information and Modeling*, 3(1), 44–64.
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Issn: 2477-5398 uji aktivitas antioksidan ekstrak buah purnajiwa (. *KOVALEN Jurnal Riset Kimia*, 3(April), 24–32.
- Race, S. (2009). *Antioxidants used as food additives*.
- Rahmawati, F. (2015). *Optimasi Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada Pemisahan Senyawa Alkaloid Daun Pulai (Alstonia scholaris L.R.Br)*. 3(7), 59–78.
- Rezaeizadeh, A., Zuki, A. B. Z., Abdollahi, M., Goh, Y. M., Noordin, M. M., Hamid, M., & Azmi, T. I. (2011). Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*. *African Journal of Biotechnology*, 10(24), 4932–4940. <https://doi.org/10.4314/ajb.v10i24>.

- Rohimat, Widowati, I., & Trianto, A. (2014). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut Coklat (*Thurbinaria conoides* dan *Sargassum cristaefolium*) yang Dikoleksi Dari Pantai Rancabuaya Garut Jawa Barat. *Marine Research*, 3(3), 304–313.
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W. R., Utami, R., & Mulatsih, W. (2010). Antioxidant Activity, Total Phenolic, And Total Flavaonoid Of Extracts And Fractions Of Red Fruit (*Pandanus Conoideus* Lam). *International Food Research Journal*, 17(1), 97–106.
- Rosahdi, T. D., Kusmiyati, M., & Wijayanti, F. R. (2013). Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih Dengan Metode DPPH. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 7(1), 362–363. <https://doi.org/10.1089/jop.2007.0126>
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25–34. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i1.2283>
- Salim, M., Sulistyningrum, N., Isnawati, A., & Sitorus, H. (2016). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Kulit Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr) dari Provinsi Sumatera Selatan dan Jambi Characterization of Simplicia and The Peel Extract of Duku (*Lansium domesticum* Corr) from South Sumatera and Jambi Province. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 6(2), 117–128. <http://ejournal.litbang.kemkes.go.id/index.php/jki/article/viewFile/6226/4774>
- Sari, I. R. M. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus ostreatus* dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif. *Skripsi UI Jakarta*, 70.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82–89.
- Setiawan, M. A., Umar, H., & Hamzari. (2019). Pengaruh Senyawa Antioksidan Dalam Pembuatan Klepon Ubi Jalur. 14(1), 1–12.
- Setyowati, W. T., & Nisa, F. C. (2014). Formulasi Biskuit Tinggi Serat (Kajian Proporsi Bekatul Jagung : Tepung Terigu dan Penambahan Baking Powder). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(3), 224–231.
- Soemari, Y. B., Sapri, & Maghfiroh, F. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Koloni Bakteri pada Daging Sapi. *Media Sains*, 9(1), 49–57.
- Souhoka, F. A., Hattu, N., & Huliselan, M. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* L). *Indo. J. Chem. Res.*, 7(1), 25–31. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2019.7-fas>
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia

- Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Suryanto, E., & Wehantouw, F. (2009). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis* F.). *Chemistry Progress*, 2(1), 1–7. <https://doi.org/10.35799/cp.2.1.2009.56>
- Syaima. (2015). Isolasi Fraksi Aktif Antibakteri Dari Ekstrak Etil Asetat Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). *Skripsi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*, 1–70.
- Tahir, M., Hikmah, N., & Rahmawati, R. (2016). Analisis Kandungan Vitamin C dan B- Karoten Dalam Daun Kelor (*Moringa Oleifra* Lam.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv–Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(1), 135–140. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i1.173>
- Tirzitis, G., & Bartosz, G. (2010). Determination Of Antiradical And Antioxidant Activity: Basic Principles And New Insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57(1), 139–142. https://doi.org/10.18388/abp.2010_2386
- Tiwari, P., Kumar, B., Mandeep, K., Kaur, G., & Harleen, K. (2011). Phytochemical Screening And Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106. <https://doi.org/10.1002/hep.29375>
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia , Karakterisasi , dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B .). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8–14.
- Wachidah, L. N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kandungan Fenolat Dan Flavonoid Total Dari Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume). *Skripsi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*, 1–69.
- Wardi, E. S., Zulkarni R, Z. R., & Nurdianti, D. (2019). Penentuan Kadar Fenolat Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Dadap Merah (*Erythrina Fusca* Lour) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 11(1), 09–16. <https://doi.org/10.33096/jifa.v11i1.501>
- Wati, M., Erwin, & Tarigan, D. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium myrtifilium* Walp.). *Kimia FMIPA Unmul*, 14(2), 100–107.
- Werdyani, S., Hartati, D. S., & Jumaryatno, P. (2019). Penentuan Fraksi Aktif Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang Tumbuh pada Pohon Rambutan. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 70–79. <https://doi.org/10.20885/jif.vol15.iss2.art3>
- Wibowo, H., Wasino, & Setyowati, D. L. (2012). Kearifan Lokal Dalam Menjaga Lingkungan Hidup (Studi Kasus Masyarakat Di Desa Colo Kecamatan Dawe Kabupaten Kudus). *Journal of Educational Social Studies*, 1(1).

- Widyasanti, A., Rohdiana, D., & Ekatama, N. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Journal Fortech*, 1(1), 2016. <http://ejournal.upi.edu/index.php>
- Widyowati, H., Ulfah, M., & Sumantri. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2 Picrylhidrazyl). *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 11(1), 25–33.
- Wijayanti, R., & Lestari, A. P. (2018). Pengaruh Ekstrak Etanolik Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume) Terhadap Kadar Gula Darah Dan Fungsi Seksual Tikus Jantan Galur Wistar Model Diabetes Mellitus Kronik. *JIFFK : Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 15(2), 1–7. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v15i2.2558>
- Winangsih, Prihastanti, E., & Parman, S. (2013). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 21(1), 19–25.
- Winarsi, H. (2011). *Buku Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*.
- Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. (2016). Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia*, 10(2), 58–64. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.annemergmed.2013.08.024>



LAMPIRAN

Lampiran 1. *Ethical Clearance*

**KOMISI BIOETIKA PENELITIAN KEDOKTERAN/KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN**

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG

Sekretariat : Gedung C Lantai I Fakultas Kedokteran Unissula
Jl. Raya Kaligawe Km 4 Semarang, Telp. 024-6583584, Fax 024-6594366

Ethical Clearance

No. 200/VII/2021/Komisi Bioetik

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa Blume*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIKOLESTEROL SECARA INVITRO

Peneliti Utama : Apt. Rina Wijayanti, M. Sc
Anggota : Winchi Susmayanti, S.Si., M.Sc
Tempat Penelitian : Lab Farmasi FK UNISSULA

dengan ini menyatakan bahwa usulan penelitian diatas telah memenuhi prasyarat etik penelitian. Oleh karena itu Komisi Bioetika merekomendasikan agar penelitian ini dapat dilaksanakan dengan mempertimbangkan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki dan panduan yang tertuang dalam Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI tahun 2014.

Semarang, 30 Juli 2021

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan
Fakultas Kedokteran Unissula

Ketua,



(dr. Sofwan Dahlan, Sp.F(K))

Lampiran 2. Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM JURUSAN BIOLOGI

Alamat : Gedung D11 FMIPA UNNES Kampus Sekarah Gunungpati Semarang 50229
website : biologi.unnes.ac.id, email : labbiologi.unnes@yahoo.com

Semarang, 18 Juni 2019

No. : 430 /UN.37.1.4.5/LT/2019
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada Yth.

Sdr. Rina Wijayanti – NIM. 18/435333/SFA/00167

Mahasiswa Program Studi S3 Ilmu Farmasi - Fakultas Farmasi
Universitas Gadjah Mada (UGM)
Yogyakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi-FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES), adalah sebagai berikut.

Divisio : Magnoliophyta
Classis : Magnoliopsida
SubClassis : Rosidae
Ordo : Myrtales
Familia : Melastomaceae
Genus : *Medinilla*
Species : *Medinilla speciosa* (Reinw. ex Bl.) Bl.
Vern. name : Parijoto

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNNES






Dra. Endah Peniati, M.Si.
NIP. 196511161991032001

Kepala Laboratorium Biologi

Dr. Ning Setiati, M.Si.
NIP. 195903101987032001

Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian

	<p>YAYASAN BADAN WAKAF SULTAN AGUNG UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA) Jl. Raya Kaligawe Km.4 Semarang 50112 Telp. (024) 6583584 (B Sel) Fax.(024) 6582455 email : informasi@unissula.ac.id web : www.unissula.ac.id</p>	
PRODI FARMASI FK		Bismillah Membangun Generasi Khaira Ummah
Nomor	: 034/KTI/SA-K-Fa/VII/2021	FORM-SA-K-FARMASI-024
Lampiran	:-	
Perihal	: Surat Pengantar	
Kepada	: Yth. Ka. Lab. Farmasi Fakultas Kedokteran UNISSULA Di Tempat	
	Assalamu'alaikum wr. wb.	
	Bersama surat ini kami hadapkan mahasiswa Fakultas Kedokteran Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang berikut :	
	Nama : Nawang Yudi Rizki Wulandari	
	NIM : 33101700038	
	Semester : VIII (Delapan)	
	Mohon diijinkan untuk melakukan penelitian berupa melakukan pembuatan simplisia, ekstraksi, fraksinasi, isolasi, dan uji aktivitas antioksidan sebagai bahan penulisan Karya Tulis Ilmiah dengan judul :	
	Isolasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i> Blume) Menggunakan Metode Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)	
	Pembimbing I : Apt. Rina Wijayanti, M.Sc	
	Pembimbing II : Windi Susmayanti, M.Sc	
	Demikian atas bantuan serta kerjasamanya diucapkan terima kasih.	
	Semarang, 15 Juli 2021 Prodi Farmasi  Agus Rosyid, M.Sc., Apt.	

Lampiran 4. Perhitungan Hasil Rendemen

Rendemen Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksan, Fraksi Metanol, Isolat Metanol

	Berat	Randemen %	Atas dan Isolat Meta nol Bawah Buah
Ekstrak metanol	375,28 g	7,5056%	
Fraksi n-heksan	20,23 g	20,23%	
Fraksi metanol	44,86 g	44,86%	
Isolat metanol atas	0,25 g	0,625%	
Isolat metanol bawah	0,1416 g	0,354%	

Parijoto

Jumlah rendemen pada Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksan, Fraksi Metanol, Isolat Metanol Atas dan Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat Hasil Olahan}}{\text{Berat Awal Olahan}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen Ekstrak Metanol} = \frac{375,28 \text{ g}}{5000 \text{ g}} \times 100\% = 7,5056\%$$

$$\% \text{ rendemen Fraksi n – Heksan} = \frac{20,23 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 20,23\%$$

$$\% \text{ rendemen Fraksi Metanol} = \frac{44,86 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 44,86\%$$

$$\% \text{ rendemen Isolat Metanol Atas} = \frac{0,25 \text{ g}}{40 \text{ g}} \times 100\% = 0,625\%$$

TIME 10:46 PNO. 1 UNIT M/W MODE TIME TEMP 120C STOP 00:15 Wet W(g) 0.500 TIME M/W(%) 00:00:00 0.00 *00:15:00 8.00 Dry W(g) 0.460	TIME 09:45 PNO. 1 NO.0002IT M/W NO.0003DE TIME TEMP 120C STOP 00:15 Wet W(g) 0.676 NO.0004 M/W(%) 00:00:00 0.00 *00:15:00 5.47	Dry W(g) 0.502 00:15:00 5.99 % 00:15:00 5.99 % 00:15:00 5.99 %
Ekstrak	Fraksi n-Heksan	Fraksi Metanol

$$\% \text{ randemen Isolat Metanol Bawah} = \frac{0,1416 \text{ g}}{40 \text{ g}} \times 100\% = 0,354\%$$

Lampiran 5. Kadar Air

Kadar air Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksan, dan Fraksi Metanol Buah Parijoto.

	Kadar Air %
Ekstrak Metanol	8 %
Fraksi larut	5,47%
Fraksi metanol	5,99%

Lampiran 6.

Skrining fitokimia Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksan, dan Fraksi metanol Buah Parijoto

Parameter Uji	Ekstrak Metanol	Fraksi n-Heksan	Fraksi Metanol	Reagen	Parameter uji Positif jika-
Flavonoid	Positif	Negatif	Positif	HCl, serbuk Mg	Jingga, merah
Saponin	Positif	Negatif	Positif	H ₂ O	Buih busa
Tanin	Positif	Negatif	Positif	FeCl ₃	Kuning intensif
Glikosida	Positif	Negatif	Positif	FeCl ₃	Cincin coklat
Terpenoid	Positif	Positif	Negatif	Liebermann burchard	Coklat kemerahan

**YAYASAN BADAN WAKAF SULTAN AGUNG
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)**
Jl. Sekeloa Kidulpage Raya 1, Mubandura, 29112 Telp: (024) 65833841 s.d. 65833842 Fax: (024) 6582425
email: info@unissula.ac.id web: www.unissula.ac.id

56
MURAHAM

LAPORAN HASIL UJI
No. Sertifikat : 03/LPF/II/2020

Informasi Peneliti
Nama : Hesti Ratnasari Tanggal Pengujian: 7 Maret 2020
NIM : 33101600443

Hasil Pengujian
Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol, Fraksi Larut dan Tak Larut N-
heksan Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.):

Sampel	Parameter uji	Reagen	Hasil Identifikasi	Metode	Kesimpulan
Ekstrak Metanol	Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl pekat	Kuning jingga, merah	Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan					Positif
Ekstrak Metanol	Saponin	HCl 2M	Terbentuk busa	Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan					Positif
Ekstrak Metanol	Tanin	NaOH	Kuning intensif	Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan					Positif

**YAYASAN BADAN WAKAF SULTAN AGUNG
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)**
Jl. Sekeloa Kidulpage Raya 1, Mubandura, 29112 Telp: (024) 65833841 s.d. 65833842 Fax: (024) 6582425
email: info@unissula.ac.id web: www.unissula.ac.id

56
MURAHAM

PRODI FARMASI FK

Sampel	Parameter uji	Reagen	Hasil Identifikasi	Metode	Kesimpulan
Ekstrak Metanol	Glikosida	FeCl ₃ , H ₂ SO ₄	Terbentuk cincin coklat	Tabung	Positif
Fraksi Larut N-heksan					Negatif
Fraksi Tak larut N-heksan					Positif
Ekstrak Metanol	Terpenoid	Kloroform, H ₂ SO ₄	Terbentuk warna coklat, kemplahan	Tabung	Negatif
Fraksi Larut N-heksan					Positif
Fraksi Tak larut N-heksan					Negatif











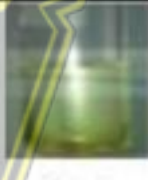




Semarang, 22 September 2020

Laboran Prodi Farmasi
FK UNISSULA

Kepala Laboratorium Prodi Farmasi
FK UNISSULA

Nisrini Nur A, Amd, AF
Ika Buana Januarti, M.Sc., Apt
NIK. 211213007



Parameter Uji	Reagen	Warna	Metode	Gambar		
				Ekstrak	Fraksi larut n-heksan	Fraksi tak larut n-heksan
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	Kuning, jingga, merah	Tabung	 Positif	 Negatif	 Positif
Saponin	HCl 2M	Terbentuk busa	Tabung	 Positif	 Negatif	 Positif
Tanin	NaOH	Kuning intensif	Tabung	 Positif	 Negatif	 Positif
Glikosida	FeCl ₃ , H ₂ SO ₄	Terbentuk cincin coklat	Tabung	 Positif	 Negatif	 Positif
Terpenoid	Kloroform, H ₂ SO ₄	Terbentuk warna coklat, kemerahan	Tabung	 Negatif	 Positif	 Negatif

Lampiran 7. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol, Fraksi n-heksan dan Fraksi Metanol Buah Parijoto

Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Metanol Buah Parijoto

$$\text{Konsentrasi ekstrak (\%)} = \frac{0,001 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \times 100\% = 0,1\%$$

Setara dengan

$$\text{Konsentrasi sampel uji} = 1 \text{ mg/ml}$$

Pembuatan Absorbansi Larutan Sampel

1 ml larutan sampel + 0,3 ml NaNO₂ 5% + 0,3 ml AlCl₃ 10% + 2 ml NaOH 1 M + ad 10 ml aquadest

Pembuatan Larutan Baku Kuarsetin

$$\text{Konsentrasi 1000 ppm kuarsetin} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 1 \text{ mg/ml} = 1000 \mu\text{g/ml}$$

Pembuatan Larutan Standar

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 50 ppm Kuersetin} &= V1.C1 = V2.C2 \\ &= V1. 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} . 50 \text{ ppm} \\ &= V1 &= \frac{10 \text{ ml} . 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= V1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 40 ppm Kuersetin} &= V1.C1 = V2.C2 \\ &= V1. 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} . 40 \text{ ppm} \\ &= V1 &= \frac{10 \text{ ml} . 40 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= V1 &= 0,4 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 30 ppm Kuersetin} &= V1.C1 = V2.C2 \\ &= V1. 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} . 30 \text{ ppm} \\ &= V1 &= \frac{10 \text{ ml} . 30 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= V1 &= 0,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi 20 ppm Kuersetin} = V1.C1 = V2. C2$$

$$= V1. 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} . 20 \text{ ppm}$$

$$= V1 = \frac{10 \text{ ml} . 20 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,2 \text{ ml}$$

$$\text{Konsentrasi 10 ppm Kuersetin} = V1.C1 = V2. C2$$

$$= V1. 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} . 10 \text{ ppm}$$

$$= V1 = \frac{10 \text{ ml} . 10 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,1 \text{ ml}$$

Kurva Kalibrasi

1 ml larutan standar + 0,3 ml NaNO₂ 5% + 0,3 ml AlCl₃ 10% + 2 ml NaOH 1 M
+ ad 10 ml aquadest

Larutan Blangko

0,3 ml NaNO₂ 5% + 0,3 ml AlCl₃ 10% + 2 ml NaOH 1 M + ad 10 ml aquadest

Pembuatan NaNO₂ 5%

$$\text{NaNO}_2 \text{ 5\% p.a} = \frac{5 \text{ g NaNO}_2}{100 \text{ ml Aquadest}}$$

Pembuatan AlCl₃ 10%

$$\text{AlCl}_3 \text{ 10 \% p.a} = \frac{10 \text{ g AlCl}_3}{100 \text{ ml aquadest}}$$

Pembuatan NaOH 1 M

$$M = \frac{g}{mr} \times \frac{1000}{ml}$$

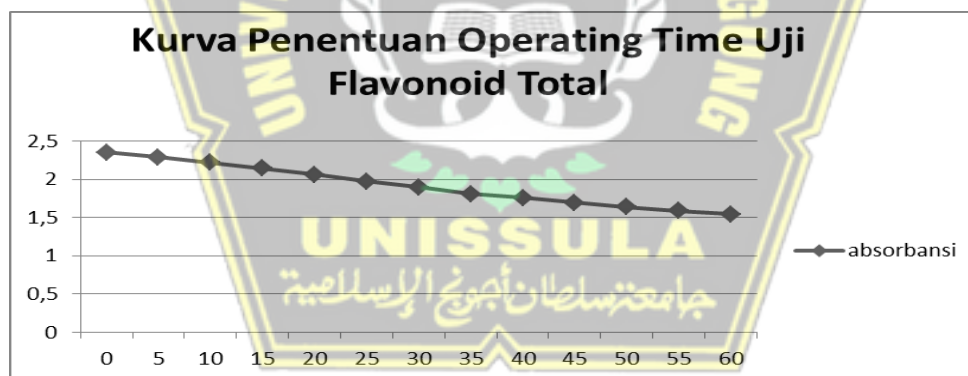
$$1 = \frac{g}{40} \times \frac{1000}{2}$$

$$1 = \frac{1000 \text{ g}}{80}$$

$$1 = 12,5 \text{ g} = 0,08 \text{ gram}$$

Penentuan *Operating Time* Kadar

Menit ke -	Absorbansi	Flavonoid Total
0	2,3529	
5	2,2855	
10	2,2198	
15	2,1405	
20	2,0574	
25	1,9719	
30	1,8984	
35	1,8108	
40	1,7566	
45	1,6957	
50	1,6396	
55	1,5891	
60	1,5411	

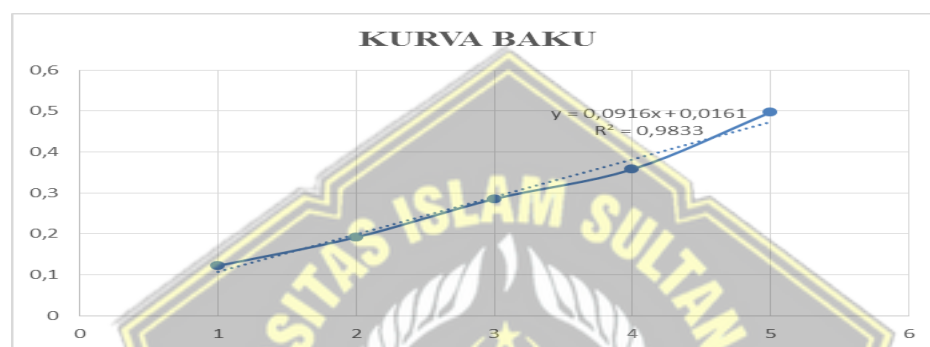


Kurva Baku Penentuan (Kurva Baku Kuarsetin)

[mg /ml]	R1	R2	R3	Rata - rata
10	0,1265	0,125	0,115	0,122167
20	0,1951	0,1993	0,181	0,1918
30	0,2807	0,2864	0,2889	0,285333
40	0,3932	0,352	0,3288	0,358
50	0,5267	0,4952	0,4693	0,497067

Kurva Baku Kuersetin

[$\mu\text{g/ml}$]	$A_{510 \text{ nm}}$
10	0,122167
20	0,1918
30	0,285333
40	0,358
50	0,497067



Perhitungan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah Parijoto

$$A = 0,0161$$

$$B = 0,0916$$

$$R = 0,9833$$

Persamaan regresi linier :

$$y = Bx + A$$

$$y = 0,0916c + 0,0161$$

y = absorbansi sampel

x = kadar flavonoid sampel (mg/ml)

Konsentrasi Flavonoid Total (\bar{x})

Sampel	R1	R2	R3	Rerata
Ekstrak	0,0118	0,0102	0,012	0,01133
Fraksi atas	0,019	0,0171	0,0159	0,01733
Fraksi bawah	0,017	0,0185	0,018	0,01783

Ekstrak Metanol

$$y = Bx + A$$

$$y = 0,0916x + 0,0161 \quad 0,01133 = 0,0916x + 0,0161$$

$$0,01133 - 0,0161 = 0,0916x$$

$$-0,00477 = 0,0916x$$

$$X = -0,052 \text{ mg/g}$$

Fraksi n-heksan

$$y = 0,0916x + 0,0161$$

$$0,01733 = 0,0916x + 0,0161$$

$$0,01733 - 0,0161 = 0,0916x$$

$$0,00123 = 0,0916x$$

$$X = 0,0134 \text{ mg/g}$$

Fraksi metanol

$$y = 0,0916x + 0,0161$$

$$0,01783 = 0,0916x + 0,0161$$

$$0,01783 - 0,0161 = 0,0916x$$

$$0,00173 = 0,0916x$$

$$X = 0,0188 \text{ mg/g}$$

Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak, Fraksi Metanol dan Fraksi n-heksan Metanol Buah Parijoto

Sampel	Kadar Flavonoid Total
Ekstrak metanol	0,052 mg/g
Fraksi n-heksan	0,0134 mg/g
Fraksi metanol	0,0188 mg/g

Lampiran 8. Pembuatan Larutan Uji Antioksidan

1. Pembuatan larutan DPPH (0,1 mM)

Banyak DPPH yang ditimbang

$$0,1 \text{ mM} = \frac{x \text{ (mg)}}{394,32} \times \frac{1000}{250 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{98,580 \times 0,1}{1000}$$

$$x = \frac{9,858}{1000}$$

$$x = 9,8 \text{ mg}$$

Ditimbang 9,8 mg serbuk DPPH diadd dalam labu 250 ml metanol p.a

2. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak, Fraksi dan Isolat Buah Parijoto

(*Medinilla speciosa* Blume)

Ekstrak, Fraksi dan Isolat Buah Parijoto Konsentrasi 1000 ppm

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{l}} = \frac{10 \text{ mg}}{0,01 \text{ l}} = 1000 \text{ ppm}$$

3. Preparasi Sampel Konsentrasi Ekstrak, Fraksi dan Isolat Buah Parijoto

(*Medinilla speciosa* Blume)

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi larutan 20 ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\ &= 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 20 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml} \\ &= V_1 = \frac{20 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= V_1 = 0,1 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi larutan 40 ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\ &= 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 40 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml} \\ &= V_1 = \frac{40 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= V_1 = 0,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi larutan 60 ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\ &= 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 60 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml} \\ &= V_1 = \frac{60 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= V_1 = 0,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi larutan } 80 \text{ ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\
 &= 1000 \text{ ppm. } V_1 = 80 \text{ ppm. } 5 \text{ ml} \\
 &= V_1 = \frac{80 \text{ ppm. } 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= V_1 = 0,4 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi larutan } 100 \text{ ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\
 &= 1000 \text{ ppm. } V_1 = 100 \text{ ppm. } 5 \text{ ml} \\
 &= V_1 = \frac{100 \text{ ppm. } 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= V_1 = 0,5 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

4. Pembuatan Larutan Standar Vitamin C 1000 ppm

$$\text{Ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{l}} = \frac{10 \text{ mg}}{0,01 \text{ l}} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi larutan } 5 \text{ ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\
 &= 1000 \text{ ppm. } V_1 = 5 \text{ ppm. } 5 \text{ ml} \\
 &= V_1 = \frac{5 \text{ ppm. } 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= V_1 = 0,025 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi larutan } 10 \text{ ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\
 &= 1000 \text{ ppm. } V_1 = 10 \text{ ppm. } 5 \text{ ml} \\
 &= V_1 = \frac{10 \text{ ppm. } 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= V_1 = 0,05 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi larutan } 15 \text{ ppm} &= M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \\
 &= 1000 \text{ ppm. } V_1 = 15 \text{ ppm. } 5 \text{ ml} \\
 &= V_1 = \frac{15 \text{ ppm. } 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}
 \end{aligned}$$

$$= V1 = 0,075 \text{ ml}$$

$$\text{Konsentrasi larutan 20 ppm} = M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$= 1000 \text{ ppm} \cdot V1 = 20 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$= V1 = \frac{20 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,1 \text{ ml}$$

$$\text{Konsentrasi larutan 25 ppm} = M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$= 1000 \text{ ppm} \cdot V1 = 25 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$= V1 = \frac{25 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,125 \text{ ml}$$

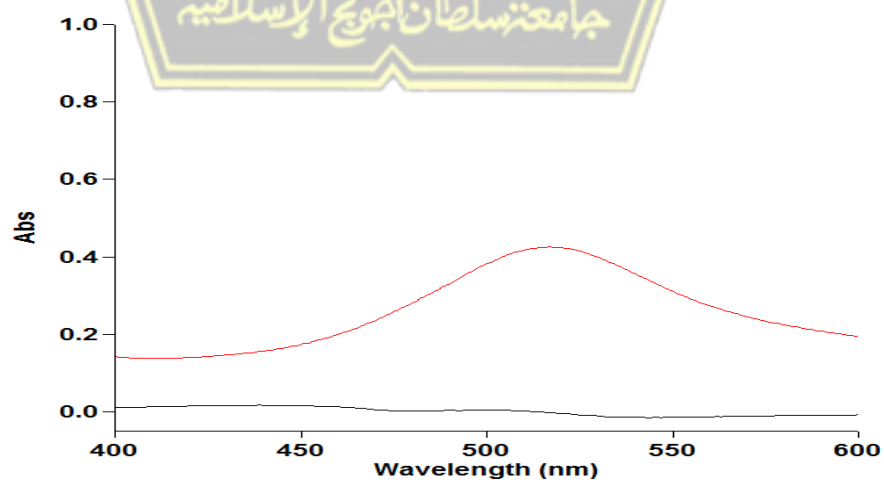
$$\text{Konsentrasi larutan 30 ppm} = M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$= 1000 \text{ ppm} \cdot V1 = 30 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}$$

$$= V1 = \frac{30 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= V1 = 0,15 \text{ ml}$$

5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH



Read Abs (600.0
nm)
Zero -0.0079

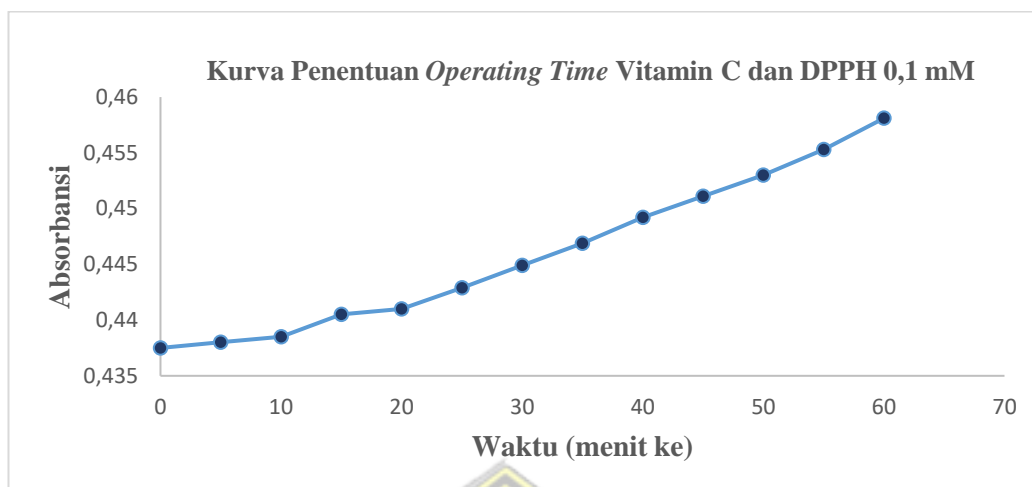
Sample Name: sample1
Collection Time 7/28/2021 12:05:27 PM

Peak Table

Peak Style Peaks
Peak 0.0100
Threshold
Range 600.0nm to 400.0nm
Wavelength Abs
(nm)
517.0 0.426

6. Penentuan *Operating Time* Vitamin C dengan DPPH 0,1 mM

Menit ke -	Absorbansi
0	0,4375
5	0,438
10	0,4385
15	0,4405
20	0,4410
25	0,4429
30	0,4449
35	0,4469
40	0,4492
45	0,4511
50	0,453
55	0,4553
60	0,4581



Lampiran 9. Hasil Uji DPPH Ekstrak Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi N-Heksan dan Isolat Metanol Buah Parijoto

Data Absorbansi, % Inhibisi, Kurva regresi linearitas dan, Nilai IC₅₀.

A. Data Absorbansi

Tabel 1. Data Absorbansi seri konsentrasi Ekstrak Metanol Buah Parijoto

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
	I	II	III
20	0.5167	0.5166	0.5165
40	0.3906	0.3907	0.3905
60	0.3004	0.3004	0.3003
80	0.1684	0.1683	0.1684
100	0.0717	0.0717	0.0718
DPPH	0,7640		

Tabel 2. Data Absorbansi seri konsentrasi Fraksi Metanol Buah Parijoto

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
	I	II	III
20	0,4914	0,4913	0,4913
40	0.3885	0.3886	0.3884
60	0.2837	0.2837	0.2841
80	0.1587	0.1588	0.1593
100	0.0387	0.0385	0.0385
Kontrol DPPH	0,7640		

Tabel 3. Data Absorbansi seri konsentrasi Fraksi n-heksan Buah Parijoto

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
	I	II	III
20	0.6440	0.6484	0.6442
40	0.6310	0.6304	0.6305
60	0.6132	0.6131	0.6132
80	0.6010	0.6009	0.6009
100	0.5747	0.5748	0.5746
Kontrol DPPH	0,7640		

Tabel 4. Data Absorbansi seri konsentrasi Isolat Metanol Atas Buah Parijoto

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
	I	II	III
20	0.5705	0.5704	0.5706
40	0.4879	0.4877	0.4877
60	0.3884	0.3883	0.3885
80	0.2701	0.2703	0.2702
100	0.2034	0.2033	0.2034
Kontrol DPPH	0,7640		

Tabel 5. Data Absorbansi seri konsentrasi Isolat Metanol Bawah Buah Parijoto

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
	I	II	III
20	0.5316	0.5317	0.5316
40	0.4567	0.4566	0.4567
60	0.3392	0.3393	0.3393
80	0.2135	0.2133	0.2132
100	0.0717	0.0718	0.0717
Kontrol DPPH	0,7640		

Tabel 6. Data Absorbansi seri konsentrasi Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
	I	II	III
5	0,7032	0,7033	0,7031
10	0,6256	0,6255	0,6257
15	0.5389	0.5388	0.5386
20	0.4465	0.4466	0.4467
25	0.3524	0.3521	0.3520
30	0.2552	0.2550	0.2551
Kontrol DPPH	0,7640		

B. Perhitungan % Inhibisi dan IC₅₀ Masing-masing Sampel (Replikasi I)

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(1 - \frac{\text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}}\right) \times 100\%$$

1. Ekstrak Metanol

$$20 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,5167}{0,7640} \times 100\% = 32,3691 \%$$

$$40 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,3906}{0,7640} \times 100\% = 48,8743 \%$$

$$60 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,3004}{0,7640} \times 100\% = 60,6806 \%$$

$$80 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,1684}{0,7640} \times 100\% = 77,9581 \%$$

$$100 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,0717}{0,7640} \times 100\% = 90,6097 \%$$

$$y = 0,7305x + 18,164$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - 18,164}{0,7305} = 43,58 \mu\text{g/ml}$$

2. Fraksi Metanol

$$20 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,4914}{0,7640} \times 100\% = 35,6806 \%$$

$$40 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,3885}{0,7640} \times 100\% = 49,1492 \%$$

$$60 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,2838}{0,7640} \times 100\% = 62,8664 \%$$

$$80 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,1587}{0,7640} \times 100\% = 79,2277 \%$$

$$100 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,0387}{0,7640} \times 100\% = 94,9520 \%$$

$$y = 0,743x + 19,799$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - 19,799}{0,743} = 40,64 \mu\text{g/ml}$$

3. Fraksi n-heksan

$$20 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,6440}{0,7640} \times 100\% = 15,7068 \%$$

$$40 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,6310}{0,7640} \times 100\% = 17,4084 \%$$

$$60 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,6132}{0,7640} \times 100\% = 19,7382 \%$$

$$80 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,6010}{0,7640} \times 100\% = 21,3351 \%$$

$$100 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,5747}{0,7640} \times 100\% = 24,7775 \%$$

$$y = 0,1122x + 13,036$$

$$IC_{50} = \frac{50 - 13,036}{0,1122} = 329,44 \mu\text{g/ml}$$

4. Isolat Metanol Atas

$$20 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,5705}{0,7640} \times 100\% = 25,3272 \%$$

$$40 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,4879}{0,7640} \times 100\% = 36,1387 \%$$

$$60 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,3884}{0,7640} \times 100\% = 49,1623 \%$$

$$80 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,2701}{0,7640} \times 100\% = 64,6466 \%$$

$$100 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,2034}{0,7640} \times 100\% = 73,377 \%$$

$$y = 0,623x + 12,355$$

$$IC_{50} = \frac{50 - 12,355}{0,623} = 60,42 \mu\text{g/ml}$$

5. Isolat Metanol Bawah

$$20 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,5316}{0,7640} \times 100\% = 30,4188 \%$$

$$40 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,4567}{0,7640} \times 100\% = 40,2181 \%$$

$$60 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,3392}{0,7640} \times 100\% = 55,6021\%$$

$$80 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,2135}{0,7640} \times 100\% = 72,0550 \%$$

$$100 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,0917}{0,7640} \times 100\% = 87,9930 \%$$

$$y = 0,735x + 13,157$$

$$IC_{50} = \frac{50 - 13,157}{0,735} = 50,12 \mu\text{g/ml}$$

6. Vitamin C

$$5 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,7032}{0,7640} \times 100\% = 7,9581 \%$$

$$10 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,6256}{0,7640} \times 100\% = 18,1152 \%$$

$$15 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,5389}{0,7640} \times 100\% = 29,4633 \%$$

$$20 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,4465}{0,7640} \times 100\% = 41,5576 \%$$

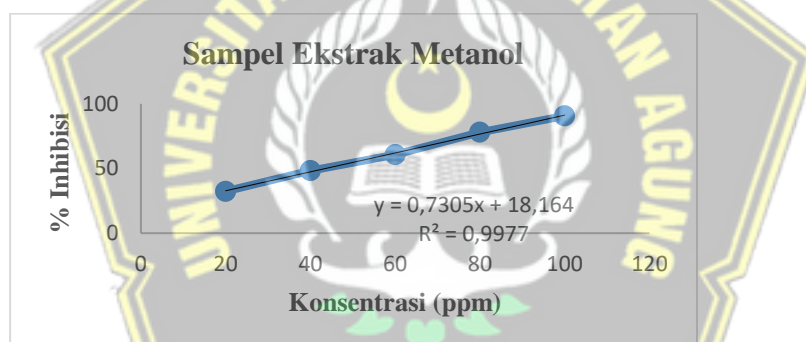
$$25 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,3524}{0,7640} \times 100\% = 53,8743 \%$$

$$30 \text{ ppm} = 1 - \frac{0,2552}{0,7640} \times 100\% = 66,5968 \%$$

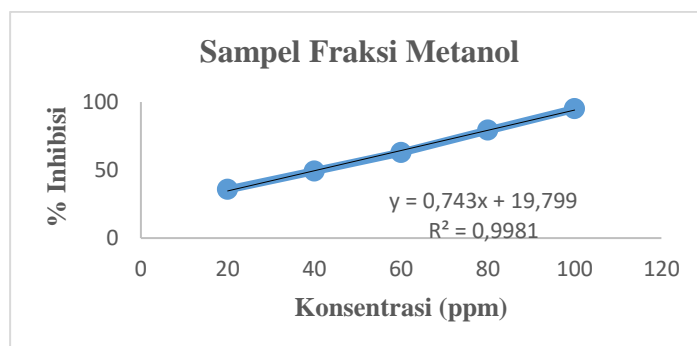
$$y = 2,3582x - 5,0003$$

$$IC_{50} = \frac{50 + 5,0003}{2,3582} = 23,32 \mu\text{g/ml}$$

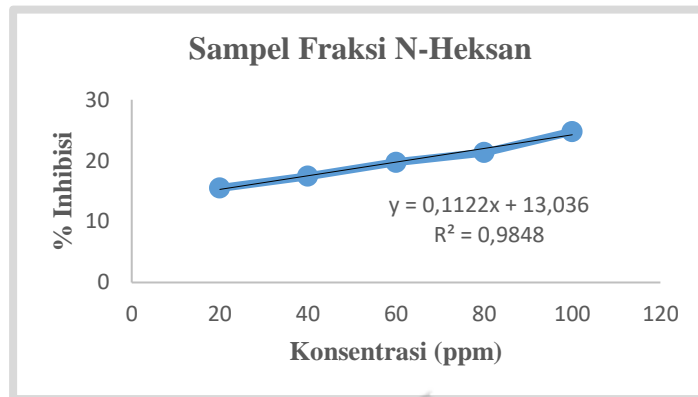
C. Kurva regresi linier antara sampel dengan % inhibisi



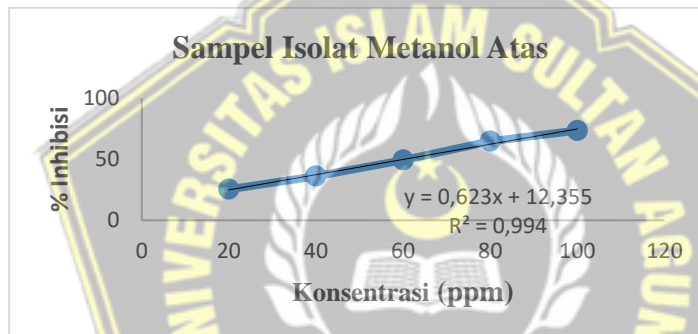
Gambar 1. Kurva regresi linier antara konsentrasi ekstrak metanol dengan % inhibisi DPPH.



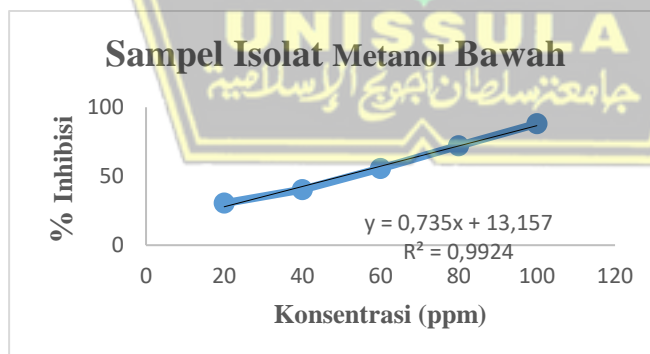
Gambar 2. Kurva regresi linier antara konsentrasi fraksi metanol dengan % inhibisi DPPH.



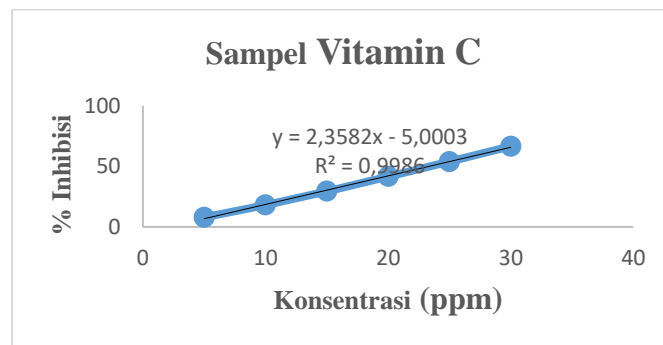
Gambar 3. Kurva regresi linier antara konsentrasi fraksi n-heksan dengan % inhibisi DPPH.



Gambar 4. Kurva regresi linier antara konsentrasi isolat metanol atas dengan % inhibisi DPPH.



Gambar 5. Kurva regresi linier antara konsentrasi isolat metanol bawah dengan % inhibisi DPPH.



Gambar 6. Kurva regresi linier antara konsentrasi vitamin C dengan % inhibisi DPPH.

Lampiran 10. Indeks Polaritas Eluen pada Uji Kemurnian

a). Tabel Indeks Polaritas Pelarut

Pelarut	Indeks Polaritas
N-heksan	0,1
Etil Asetat	4,4
Toluena	2,4
Kloroform	4,1

b). Tabel Indeks Polaritas Eluen Uji Kemurnian

No	Fase gerak	Indeks Polaritas
1. Isolat Metanol Atas	N-heksan : Etil asetat (5:1)	0,49
	Toluena : Etil asetat (1:1)	0,68
	Kloroform : Etil asetat (1:1)	0,85
2. Isolat Metanol Bawah	N-heksan : Etil asetat (5:1)	0,49
	Kloroform : Etil asetat (2:1)	1,26
	Toluena : Etil asetat (4:2)	1,84

c). Perhitungan indeks polaritas

N-heksan : etil asetat = (konsentrasi x IP) N-heksan + (konsentrasi x IP) etil asetat

$$(5:1) = 0,5 \times 0,1 + 0,1 \times 4,4$$

$$= 0,05 + 0,44 = 0,49$$

Toluena : etil asetat = (konsentrasi x IP) toluena + (konsentrasi x IP) etil asetat
 (1:1) = $0,1 \times 2,4 + 0,1 \times 4,4$
 $= 0,24 + 0,44$
 $= 0,68$

Kloroform : etil asetat = (konsentrasi x IP) kloroform + (konsentrasi x IP) etil asetat
 (1:1) = $0,1 \times 4,1 + 0,1 \times 4,4$
 $= 0,41 + 0,44$
 $= 0,85$

N-heksan : etil asetat = (konsentrasi x IP) N-heksan + (konsentrasi x IP) etil asetat
 (5:1) = $0,5 \times 0,1 + 0,1 \times 4,4$
 $= 0,05 + 0,44$
 $= 0,49$

Kloroform : etil asetat = (konsentrasi x IP) kloroform + (konsentrasi x IP) etil asetat
 (2:1) = $0,2 \times 4,1 + 0,1 \times 4,4$
 $= 0,82 + 0,44$
 $= 1,26$

Toluena : etil asetat = (konsentrasi x IP) toluena + (konsentrasi x IP) etil asetat
 (4:2) = $0,4 \times 2,4 + 0,2 \times 4,4$
 $= 0,96 + 0,88$
 $= 1,84$

Lampiran 11. Hasil SPSS Uji Antioksidan

Deskriptive

		Descriptives			
Sample			Statistic	Std. Error	
IC50	Ekstrak Metanol	Mean		433706.0000	67.48580
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	433415.6320	
			Upper Bound	433996.3680	
		5% Trimmed Mean		.	
		Median		433759.0000	
		Variance		13663.000	
		Std. Deviation		116.88884	
		Minimum		433572.00	
		Maximum		433787.00	
		Range		215.00	
		Interquartile Range		.	
		Skewness		-1.621	1.225
		Kurtosis		.	.
		Fraksi Metanol	Fraksi Metanol	Mean	
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			406384.3784	
	Upper Bound			406788.2883	
5% Trimmed Mean				.	
Median				406553.0000	
Variance				6609.333	
Std. Deviation				81.29781	
Minimum				406527.00	
Maximum				406679.00	
Range				152.00	
Interquartile Range				.	
Skewness				1.535	1.225
Kurtosis				.	.
Fraksi n-heksan	Fraksi n-heksan			Mean	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3133980.2853	
			Upper Bound	3461177.7147	
		5% Trimmed Mean		.	
		Median		3332308.0000	
		Variance		4337189913.0000	
		Std. Deviation		65857.34517	
		Minimum		3.22E+6	
		Maximum		3.34E+6	
		Range		117177.00	
		Interquartile Range		.	
		Skewness		-1.713	1.225
		Kurtosis		.	.
		Isolat Metanol Atas	Isolat Metanol Atas	Mean	
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			604033.7869	
	Upper Bound			604560.2131	
5% Trimmed Mean				.	
Median				604350.0000	
Variance				11227.000	
Std. Deviation				105.95754	
Minimum				604175.00	
Maximum				604366.00	
Range				191.00	
Interquartile Range				.	
Skewness				-1.688	1.225
Kurtosis				.	.

Isolat Metanol Bawah	Mean		500063.3333	1181.22596
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	494980.9282	
		Upper Bound	505145.7385	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		501224.0000	
	Variance		4185884.333	
	Std. Deviation		2045.94338	
	Minimum		497701.00	
	Maximum		501265.00	
	Range		3564.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.731	1.225
	Kurtosis		.	.
Kontrol Positif	Mean		233226.3333	26.33333
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	233113.0301	
		Upper Bound	233339.6365	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		233200.0000	
	Variance		2080.333	
	Std. Deviation		45.61067	
	Minimum		233200.00	
	Maximum		233279.00	
	Range		79.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.732	1.225
	Kurtosis		.	.
Kontrol Negatif	Mean		2.0000	.57735
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.4841	
		Upper Bound	4.4841	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		2.0000	
	Variance		1.000	
	Std. Deviation		1.00000	
	Minimum		1.00	
	Maximum		3.00	
	Range		2.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.000	1.225
	Kurtosis		.	.

Uji Normalitas

Tests of Normality

Sample	Statistic	Kolmogorov-Smirnov ^a		Shapiro-Wilk		
		df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
IC50 Ekstrak Metanol	.342	3	.	.846	3	.229
Fraksi Metanol	.326	3	.	.874	3	.307
Fraksi n-heksan	.368	3	.	.791	3	.094
Isolat Metanol Atas	.358	3	.	.812	3	.144
Isolat Metanol Bawah	.381	3	.	.759	3	.019
Kontrol Positif	.385	3	.	.750	3	.000
Kontrol Negatif	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

➤ Oneway

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
IC50	Based on Mean	15.466	6	14	.000
	Based on Median	1.172	6	14	.375
	Based on Median and with adjusted df	1.172	6	2.004	.528
	Based on trimmed mean	12.470	6	14	.000

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22842364745201. 145	6	3807060790866.8 57	6138.427	.000
Within Groups	8682818756.000	14	620201339.714		
Total	22851047563957. 145	20			

Transformasi

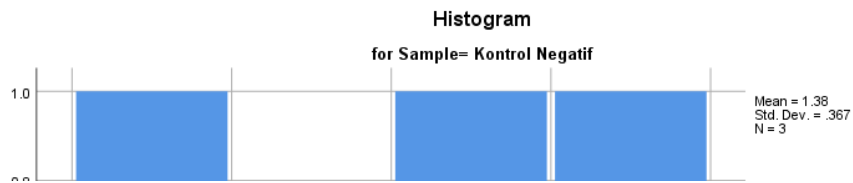
Tests of Normality

Sample	Statistic	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
		df	Sig.	Statistic	df	Sig.		
Transform_x1RES_IC 50	Ekstrak Metanol		.342	3	.	.846	3	.229
	Fraksi Metanol		.326	3	.	.874	3	.307
	Fraksi n-heksan		.368	3	.	.791	3	.093
	Isolat Metanol Atas		.358	3	.	.812	3	.144
	Isolat Metanol Bawah		.381	3	.	.759	3	.019
	Kontrol Positif		.385	3	.	.750	3	.000
	Kontrol Negatif		.202	3	.	.994	3	.855

a. Lilliefors Significance Correction

Transform_IC50

Histograms



Kruskal-Wallis

Kruskal-Wallis Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	
Transform_x1RES_I C50	Ekstrak Metanol	3	11.00	
	Fraksi Metanol	3	8.00	
	Fraksi n-heksan	3	20.00	
	Isolat Metanol Atas	3	17.00	
	Isolat Metanol Bawah	3	14.00	
	Kontrol Positif	3	5.00	
	Kontrol Negatif	3	2.00	
	Total		21	

Test Statistics ^{a,b}	
	Transform_x1RES_IC50
Chi-Square	19.649
Df	6
Asymp. Sig.	.003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sample

Kelompok Kontrol Negatif Vs Ekstrak Metanol

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I	Ekstrak Metanol	3	5.00	15.00

C50	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_x 1RES_IC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Negatif Vs Fraksi Metanol

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC5 0	Fraksi Metanol	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_ x1RES_IC5 0
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Negatif Vs Fraksi n-heksan

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Fraksi n-heksan	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Transform_x1RES_IC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Negatif Vs Isolat Metanol Atas

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Isolat Metanol Atas	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Transform_x1RES_IC50
Mann-Whitney U	.000

Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Negatif Vs Isolat Metanol Bawah

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Isolat Metanol Bawah	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_x1RES_IC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Negatif Vs Kontrol Positif

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I	Kontrol Positif	3	5.00	15.00
C50	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_x1RES_IC 50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Positif Vs Ekstrak Metanol

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I	Ekstrak Metanol	3	5.00	15.00
C50	Kontrol Positif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_x1RES_I C50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993

Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Positif Vs Fraksi Metanol

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I C50	Fraksi Metanol	3	5.00	15.00
	Kontrol Positif	3	2.00	6.00
	Total	6		

	Transform_x1RES_I C50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Positif Vs Fraksi n-heksan

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I	Fraksi n-heksan	3	5.00	15.00

C50	Kontrol Positif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_ x1RES_IC5 0
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Positif Vs Isolat Metanol Atas

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Isolat Metanol Atas	3	5.00	15.00
	Kontrol Positif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_ x1RES_IC5 0
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

- a. Grouping Variable: sample
b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol Positif Vs Isolat Metanol Bawah

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Isolat Metanol Bawah	3	5.00	15.00
	Kontrol Positif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Transform_x1RES_IC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

- a. Grouping Variable: sample
b. Not corrected for ties.

Kelompok Ekstrak Metanol Vs Fraksi Metanol

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Ekstrak Metanol	3	5.00	15.00
	Fraksi Metanol	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform _x1RES_I C50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Ekstrak Metanol Vs Fraksi n-heksan

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I C50	Ekstrak Metanol	3	2.00	6.00
	Fraksi n-heksan	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform _x1RES_I C50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Ekstrak Metanol Vs Isolat Metanol Atas

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Ekstrak Metanol	3	2.00	6.00
	Isolat Metanol Atas	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_x1RES_IC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Ekstrak Metanol Vs Isolat Metanol Bawah

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC50	Ekstrak Metanol	3	2.00	6.00
	Isolat Metanol Bawah	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform _x1RES_I C50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2- tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1- tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Fraksi Metanol Vs Fraksi n-heksan

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I	Fraksi Metanol	3	2.00	6.00
C50	Fraksi n-heksan	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_ x1RES_IC 50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2- tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1- tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Fraksi Metanol Vs Isolat Metanol Atas

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC 50	Fraksi Metanol	3	2.00	6.00
	Isolat Metanol Atas	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_ x1RES_IC5 0
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1- tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Fraksi Metanol Vs Isolat Metanol Bawah

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC 50	Fraksi Metanol	3	2.00	6.00
	Isolat Metanol Bawah	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform _x1RES_I C50
--	------------------------------

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Fraksi n-heksan Vs Isolat Metanol Atas

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC 50	Fraksi n-heksan	3	5.00	15.00
	Isolat Metanol Atas	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_x1RES_IC50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Fraksi n-heksan Vs Isolat Metanol Bawah

➤ NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_I C50	Fraksi n-heksan	3	5.00	15.00
	Isolat Metanol Bawah	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Transform_x1RES_I C50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: sample

b. Not corrected for ties.

Kelompok Isolat Metanol Atas Vs Isolat Metanol Bawah➤ **NPar Tests****Mann-Whitney Test****Ranks**






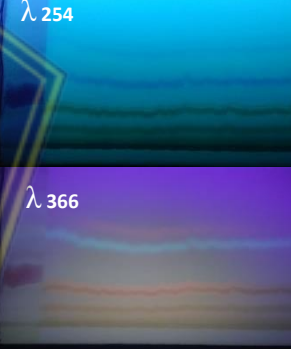




	Sample	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Transform_x1RES_IC 50	Isolat Metanol Atas	3	5.00	15.00
	Isolat Metanol Bawah	3	2.00	6.00
	Total	6		




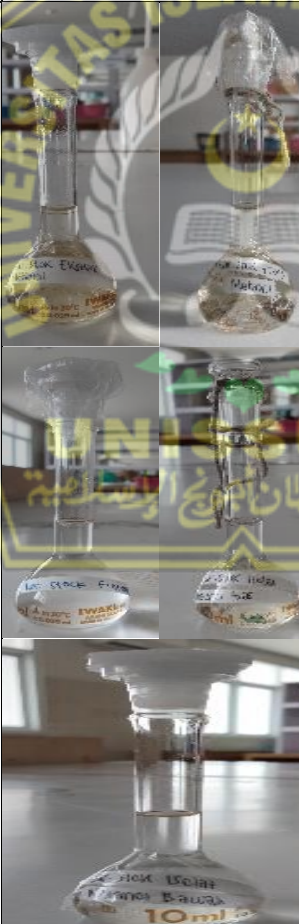

Test Statistics^a

	Transform_x1 RES_I C50
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian

Keterangan	Foto	Keterangan	Foto
1). Sortasi buah Parijoto		2). Penimbangan buah Parijoto kering	
3). Penghalusan buah Parijoto		4). Proses Ekstraksi Maserasi	
5). Hasil Ekstraksi		6). Proses Fraksinasi	
7). Hasil Fraksinasi		8). Vortex Fraksi	

<p>9). Pengaktifan plat KLTP pada Oven suhu 105°C selama 30 menit</p>		<p>10). Penotolan fraksi pada KLTP</p>	
<p>11). Penjenuhan KLTP dengan eluen (n-heksan:etil asetat) (5:1)</p>		<p>12). Penyemprotan plat KLTP dengan serum sulfat</p>	
<p>13). Pemanasan plat KLTP</p>		<p>14). Penampakan plat KLTP isolat pada uv 254 nm dan 366 nm</p>	
<p>15). Penyaringan Isolat dengan medipump</p>		<p>16). Penguapan isolat pada waterbath suhu 50°C</p>	
<p>17). Hasil Isolasi</p>		<p>18). Uji kemurnian isolat</p>	

			
<p>19). Larutan induk DPPH 0,1 mM</p>		<p>20). Larutan induk vitamin C 1000 ppm</p>	
<p>21). Larutan induk sampel 1000 ppm</p>		<p>22). Larutan seri konsentrasi sampel 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm</p>	

23). Preparasi sampel + DPPH 0,1 mM pada ruang gelap		24). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol	
25). Aktivitas antioksidan fraksi metanol		26). Aktivitas antioksidan fraksi n-heksan	
27). Aktivitas antioksidan isolat metanol atas		28). Aktivitas antioksidan isolat metanol bawah	
29). Aktivitas antioksidan vitamin C		30). Larutan blanko DPPH	
31). Pembacaan spektrofotometer uv-vis			