

**PERBANDINGAN METODE MASERASI DAN REFLUKS  
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI  
EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)**



**TUGAS AKHIR**

**Oleh:**

**SYAHRA AMELIA**

**18080139**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI  
POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA**

**2021**

**PERBANDINGAN METODE MASERASI DAN REFLUKS  
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI  
EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)**



**TUGAS AKHIR**

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Dalam Mencapai Gelar Ahli**

**Madya Madya Program Studi Diploma III Farmasi**

**Oleh:**

**SYAHRA AMELIA**

**18080139**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI**

**POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA**

**2021**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**PERBANDINGAN METODE MASERASI DAN REFLUKS  
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI  
EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)**



**DIPERIKSA DAN DISETUJUI OLEH :**

**PEMBIMBING I**



**WILDA AMANANTI, S. Pd. M.Si**  
NIDN.0605128902

**PEMBIMBING II**



**apt. RIZKI FEBRIYANTI, M.Farm**  
NIDN.0627028302

## HALAMAN PENGESAHAN

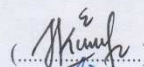
Tugas akhir ini diajukan oleh :

Nama : SYAHRA AMELIA  
NIM : 18080139  
Jurusan / Program Studi : Diploma III Farmasi  
Judul Tugas Akhir : PERBANDINGAN METODE MASERASI DAN  
REFLUKS TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK DAUN  
SIRSAK (*Annona muricata* L.)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Tim Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi pada Jurusan/ Program Studi Diploma III Farmasi, Politeknik Harapan Bersama Tegal.

### TIM PENGUJI

Ketua Sidang : Kusnadi, M.Pd

(.....  


Penguji 1 : apt. Rizki Febriyanti, M. Farm

(.....  



Penguji 2 : Aldi Budi Riyanta, S.Si. M. T

(.....  


Tegal, 23 Maret 2021

Program Studi Diploma III Farmasi

Ketua Program Studi

  
apt. Sari Prabandari, S. Farm., M.M

NIPY. 08.015.223

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tugas akhir ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.

NAMA	SYAHRA AMELIA
NIM	18080139
Tanda Tangan	
Tanggal	7 April 2021



## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

Sebagai sivitas akademika Politeknik Harapan Bersama Tegal, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : SYAHRA AMELIA

NIM : 18080139

Jurusan / Program Studi : Diploma III Farmasi

Jenis karya : Tugas Akhir

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Politeknik Harapan Bersama Tegal **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*none-exclusive royalty free right*) atas Tugas Akhir saya yang berjudul :

**“ PERBANDINGAN METODE MASERASI DAN REFLUKS TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) ”**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Politeknik Harapan Bersama Tegal berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Tegal

Pada tanggal : 7 April 2021

Yang menyatakan



Syahra Amelia

## **MOTTO**

Memulai dengan penuh keyakinan, menjalankan dengan penuh keikhlasan, menyelesaikan dengan penuh kebahagiaan

Sabar dalam mengatasi kesulitan dan bertindak bijaksana dalam mengatasinya adalah sesuatu yang utama

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Alhamdulillahil'alamin. Dengan segala puja dan puji syukur kepada Allah SWT dan atas dukungan do'a dari orang-orang tercinta, akhirnya Tugas Akhir ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Oleh karena itu, dengan rasa bangga dan bahagia Tugas Akhir ini penulis persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua saya tercinta yang selalu memberikan do'a, dukungan, kasih sayang dan cintanya.
2. Keluarga kecil prodi Diploma III Farmasi Bapak dan Ibu dosen pembimbing, penguji dan pengajar.
3. Adik saya tersayang yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, senyum dan doanya untuk keberhasilan ini.
4. Sahabat dan teman saya yang saya sayangi, tanpa dukungan dan bantuan kalian semua takkan mungkin saya sampai disini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya untuk kalian semua. Akhir kata saya persembahkan Tugas Akhir ini untuk kalian semua. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat dan berguna untuk kemajuan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang. Aamiin.



## **PRAKATA**

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penyusunan Tugas Akhir yang berjudul “**PERBANDINGAN METODE MASERASI DAN REFLUKS TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*)**” dapat diselesaikan dengan baik.

Penyusunan Tugas Akhir ini diajukan sebagai syarat menyelesaikan pendidikan gelar Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal. Dalam penyusunan Tugas Akhir ini penulis banyak mendapatkan motivasi, bimbingan, pengarahan dan petunjuk dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Nizar Suhendra, S.E.,MPP selaku ketua Direktur Politeknik Harapan Bersama Tegal.
2. Ibu apt. Sari Prabandari, S.Farm.,M.M selaku Ketua Program Studi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.
3. Bapak kusnadi, M.Pd selaku Ketua Tim KTI Program Studi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.
4. Ibu Wilda Amananti, S.Pd., M. Si dan Ibu apt. Rizki Febriyanti, M. Farm selaku Pembimbing I dan II yang dengan penuh kesabaran dan keikhlasan memberikan motivasi, dorongan, perhatian, bimbingan, pengarahan serta saran dalam pembuatan Tugas Akhir ini mulai dari awal sampai akhir sehingga Tugas Akhir ini dapat diselesaikan dengan baik.

5. Laboratorium Farmasi yang telah membantu dalam proses penelitian ini, terima kasih atas tenaga dan waktunya.
6. Seluruh Dosen Farmasi yang telah banyak memberikan bekal ilmu pengetahuan dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
7. Kedua orang tua dan keluarga yang tak henti – hentinya mendo'akan, memberi semangat, motivasi, dukungan, pengorbanan, kasih sayang dan seluruh cinta yang diberikan.
8. Sahabat dan teman-teman seperjuangan yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam penyusunan Tugas Akhir.
9. Rekan-rekan dan semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Tugas Akhir.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam Tugas Akhir ini. Oleh karena itu, saran dan kritik yang konstruktif sangat penulis harapkan demi perbaikan Tugas Akhir selanjutnya. Akhirnya penulis berharap semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat dan perkembangan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang farmasi.

Tegal, 7 April 2021

Syahra Amelia

## INTISARI

**Amelia, Syahra., Amananti, Wilda., Febriyanti, Rizki. 2021. Perbandingan Metode Maserasi Dan Refluks Terhadap Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.).**

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini menggunakan metode maserasi dan refluks. Alasan menggunakan metode maserasi karena maserasi dapat menarik semua metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap pemanasan, sedangkan metode refluks dapat membantu proses difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan sehingga penarikan senyawa lebih maksimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan antara metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap aktivitas antioksidan pada daun sirsak.

Ekstraksi daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi dan refluks dengan menggunakan etanol 96%. Identifikasi daun sirsak dilakukan secara mikroskopis dan makroskopis. Identifikasi senyawa kimia dengan uji flavonoid dan KLT. Besarnya aktivitas antioksidan diperoleh dengan pengujian radikal bebas DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dengan vitamin C sebagai kontrol positifnya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Analisis data yang dilakukan menggunakan deskriptif.

Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak daun sirsak memiliki kandungan flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan yang dilakukan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak refluks daun sirsak sebesar 7,04 ppm lebih tinggi daripada ekstrak maserasi daun sirsak sebesar 22,14 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi refluks dan maserasi dapat dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat.

**Kata Kunci:** *Daun Sirsak, Antioksidan, Maserasi, Refluks, DPPH,  $IC_{50}$ .*

## ABSTRACT

**Amelia, Syahra., Amananti, Wilda., Febriyanti, Rizki. 2021. Comparison Between Maceration And Reflux Methods Towards Antioxidants Activity On Soursop Leaves Extract (*Annona muricata* L.).**

*Soursop leaves (*Annona muricata* L.) contain flavonoid compounds that function as antioxidants. This research used maceration and reflux methods. The reason for using the maceration method was because maceration can attract all secondary metabolites that are not resistant to heating, while the reflux method could help the process of solvent diffusion into the plant cell walls so that compound withdrawals are maximized. This study aimed to determine the comparison between maceration and reflux extraction methods on the antioxidant activity of soursop leaves.*

*The extraction of soursop leaves was using maceration and reflux methods were carried out using 96% ethanol. The identification of soursop leaves was done microscopically and macroscopically. The identification of chemical compounds with flavonoids and KLT. The amount of antioxidant activity was obtained by testing free radicals DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) with vitamin C as a positive control using Spectrophotometry UV-Vis. Data analysis was performed using descriptive.*

*Based on the results of this study, soursop leaf extract contains flavonoids which are antioxidants. The results of the antioxidant activity test that was carried out by the DPPH method showed that the IC<sub>50</sub> value of the soursop leaf reflux extract was 7,04 ppm better than the macerated soursop leaf extract of 22,14 ppm. It showed that the reflux extraction and maceration methods can be categorized as very strong antioxidants.*

**Keyword: Soursop Leaf, Antioxidant, Maceration, Reflux, DPPH, IC<sub>50</sub>.**

## DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	v
MOTTO .....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	vii
PRAKATA.....	viii
INTISARI.....	x
ABSTRACK .....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR SKEMA.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Batasan Masalah .....	3
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
1.6. Keaslian Penelitian .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS .....	7
2.1 Tinjauan Pustaka.....	7
2.1.1 Tanaman Daun Sirsak.....	7
2.1.2 Definisi Simplisia .....	9
2.1.3 Pengelolaan Simplisia.....	11
2.1.4 Ekstrak .....	11
2.1.5 Metode Ekstraksi .....	12

2.1.6	Kromatografi Lapis Tipis .....	16
2.1.7	Antioksidan.....	18
2.1.8	Metode Uji Antioksidan dengan Metode DPPH .....	19
2.1.9	Flavonoid .....	21
2.1.10	Vitamin C .....	22
2.1.11	IC <sub>50</sub> ( <i>Inhibitor concentration fifty</i> ) .....	24
2.1.12	Spektrofotometri UV-Vis .....	25
2.2	Hipotesis .....	27
BAB III METODE PENELITIAN.....		28
3.1	Objek Penelitian .....	28
3.2	Sampel dan Teknik Sampling.....	28
3.3	Variabel Penelitian .....	28
3.3.1	Variabel Bebas.....	28
3.3.2	Variabel Terikat.....	28
3.3.3	Variabel Terkendali .....	29
3.4	Teknik Pengumpulan Data .....	29
3.4.1	Cara Pengumpulan Data .....	29
3.4.2	Alat dan Bahan .....	29
3.5	Cara Kerja.....	30
3.6	Analisis Data.....	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		42
BAB V PENUTUP.....		58
5.1	Kesimpulan.....	58
5.2	Saran .....	58
DAFTAR PUSTAKA .....		59

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2.1	Tingkatan aktivitas antioksidan .....	24
Tabel 4.1	Uji Makroskopik .....	43
Tabel 4.2	Uji Mikroskopik.....	43
Tabel 4.3	Uji Bebas Etanol .....	46
Tabel 4.4	Hasil Uji Identifikasi Flavonoid.....	47
Tabel 4.5	Hasil Rf dan HRf.....	48
Tabel 4.6	Panjang Gelombang Maksimal DPPH.....	50
Tabel 4.7	Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	52
Tabel 4.8	Log Konsentrasi, Probit, % Inhibisi.....	52
Tabel 4.9	Aktivitas Antioksidan Ekstrak Maserasi.....	53
Tabel 4.10	Log Konsentrasi, Probit, % Inhibisi.....	54
Tabel 4.11	Aktivitas Antioksidan Ekstrak Refluks.....	54
Tabel 4.12	Log Konsentrasi, Probit, % Inhibisi.....	55
Tabel 4.13	Tingkatan Aktivitas Antioksidan .....	57



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Sirsak .....	7
Gambar 2.2 Metode Ekstraksi Refluks .....	16
Gambar 2.3 Reaksi Perendaman Radikal Bebas DPPH.....	20
Gambar 2.4 Struktur Umum Senyawa Flavonoid.....	21
Gambar 2.5 Struktur Umum Vitamin C.....	23
Gambar 2.6 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis.....	25
Gambar 4.1 Kurva Panjang Gelombang .....	51
Gambar 4.2 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Vitamin C.....	53
Gambar 4.3 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Ekstrak Maserasi .....	54
Gambar 4.4 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Ekstrak Refluks .....	55
Gambar 4.5 Grafik Perbandingan Nilai $IC_{50}$ Vitamin C dengan Ekstrak Maserasi dan Ekstrak Refluks Daun Sirsak .....	56

## DAFTAR SKEMA

Gambar 3.1 Skema Pengambilan Sampel .....	30
Gambar 3.2 Skema Pemeriksaan Mikroskopik .....	31
Gambar 3.3 Skema Ekstraksi Dengan Metode Maserasi .....	31
Gambar 3.4 Skema Ekstraksi Dengan Metode Refluks .....	32
Gambar 3.5 Skema Uji Bebas Etanol.....	33
Gambar 3.6 Skema Identifikasi Senyawa Flavonoid .....	34
Gambar 3.7 Skema Uji Kromatografi Lapis Tipis .....	365
Gambar 3.8 Skema Pembuatan Larutan DPPH.....	37
Gambar 3.9 Skema Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH.	37
Gambar 3.10 Skema Pembuatan Larutan Induk Vitamin C.....	38
Gambar 3.11 Skema Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C .....	38
Gambar 3.12 Skema Skema Pembuatan Larutan Induk 2000 ppm .....	38
Gambar 3.13 Skema Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi .....	39
Gambar 3.14 Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan .....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Presentase Bobot Kering terhadap Bobot Basah .....	64
Lampiran 2 Perhitungan Rendemen Ekstrak Maserasi Daun Sirsak .....	65
Lampiran 3 Perhitungan Rendeman Ekstrak Refluks Daun Sirsak .....	66
Lampiran 4 Perhitungan Fase Gerak Pada Kromatografi Lapis Tipis .....	67
Lampiran 5 Pembuatan larutan seri vitamin C.....	68
Lampiran 6 Pembuatan Larutan Seri Ekstrak Daun Sirsak.....	69
Lampiran 7 Data Absorbansi Ekstrak Daun Sirsak.....	70
Lampiran 8 Tabel Probit .....	74
Lampiran 9 Pembuatan Serbuk Daun Sirsak .....	75
Lampiran 10 Proses Ekstraksi Daun Sirsak .....	76
Lampiran 11 Proses KLT .....	78
Lampiran 12 Proses Pembuatan Larutan DPPH dan Larutan Uji .....	79
Lampiran 13 Proses Mencari Data Absorbansi dengan Spektrofotometri UV-Vis .....	80

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) berasal dari Amerika tengah dan daerah Karibia. Kandungan fitokimia dalam sirsak diketahui memiliki sifat antikanker yang selektif. Senyawa acetogenin dilaporkan dapat membunuh sel kanker dengan cara menghambat produksi ATP sel kanker tersebut (Zuhud, 2011). Beberapa senyawa memiliki antioksidan salah satunya adalah golongan flavonoid, karena kemampuannya yang dapat mereduksi radikal bebas. Golongan flavonoid meliputi kalkon, flavon, isoflavon, flavonol, dan katekin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Anastasia dkk. 2016).

Sirsak merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan antioksidan tinggi. Antioksidan yang terdapat pada tanaman sirsak terletak pada bagian daunnya (Rahayu, 2012). Menurut penelitian sebelumnya menyatakan bahwa daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan ekstrak daun kenikir dan rumput mutiara yaitu dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $37,91 \mu\text{g/mL}$  yang dapat dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat (Wahyuni dkk. 2018).

Aktivitas antioksidan merupakan suatu aktivitas senyawa yang bersifat menghambat terjadinya pembentukan radikal bebas didalam tubuh. Antioksidan substansi diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan

mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal. Tumbuhan obat merupakan sumber antioksidan eksogen yang bersifat alami. Antioksidan ini memiliki berbagai efek farmakologis seperti antiinflamasi, antikanker, antibakteri, dan antivirus (Zuraida dkk. 2017).

Metode ekstraksi yang dilakukan terhadap suatu simplisia akan mempengaruhi kandungan senyawa yang tersari pada ekstrak. Menurut hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa metode ekstraksi akan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa bioaktif yang bertindak sebagai antioksidan (Utami dkk. 2015). Dalam proses ekstraksi suatu bahan tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya: jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi (Senja dkk. 2014).

Penelitian ini menggunakan dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan refluks. Metode maserasi dipilih karena dapat menarik semua metabolit sekunder termasuk yang tidak tahan terhadap pemanasan, sedangkan metode refluks menggunakan efek panas. Adanya pengaruh perlakuan panas pada refluks dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal atau memberikan peningkatan rendemen (Hasanah dkk. 2016). Selain itu, efek panas yang dihasilkan dari metode refluks dapat membantu proses difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan (Kiswando, 2011). Senyawa antioksidan dalam ekstrak daun sirsak dapat rusak pada suhu diatas 60°C (

Haijun et al. 2010), sehingga pada penelitian ini ekstraksi daun sirsak dilakukan dengan menggunakan suhu 50-60°C.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian untuk membandingkan antara dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan refluks terhadap banyaknya ekstrak yang didapat serta besarnya kadar aktivitas antioksidan pada daun sirsak (*Annona muricata* L.).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Dari latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan metode ekstraksi antara maserasi dan refluks terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)?
2. Berapa besar aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan metode maserasi dan refluks?

## **1.3 Batasan Masalah**

Dari sekian permasalahan yang ada, penulis perlu memberikan batasan-batasan masalah yang diantaranya sebagai berikut:

1. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) diperoleh dari Desa Gumalar, Kecamatan Adiwerna, Kabupaten Tegal dalam keadaan segar.
2. Uji identifikasi daun sirsak menggunakan uji makroskopik dan mikroskopik.
3. Daun sirsak dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

4. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dan refluks dengan menggunakan pelarut etanol 96%.
5. Uji kandungan zat aktif menggunakan uji kualitatif.
6. Uji kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam (plat) dan fase gerak (n-butanol: Asam Asetat: Air) dengan perbandingan (4: 1: 5).
7. Uji bebas alkohol menggunakan asam asetat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
8. Metode yang digunakan dalam penelitian penentuan kadar aktivitas antioksidan adalah perendaman DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).
9. Penetapan kadar aktivitas antioksidan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan menggunakan metode maserasi dan refluks.
2. Untuk mengetahui besar kandungan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan metode maserasi dan refluks.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai kadar aktivitas antioksidan yang terdapat dalam daun sirsak (*Annona muricata* L.).



2. Mengetahui pengaruh perbedaan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar aktivitas antioksidan pada daun sirsak (*Annona muricata* L.).
3. Sebagai referensi bagi peneliti lain untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut.

## 1.6 Keaslian Penelitian

**Tabel 1.1 Keaslian Penelitian**

No	Pembeda	Peneliti 1 (Safira, 2017)	Peneliti 2 (Sektiaji, 2018)	Peneliti 3 (Amelia, 2021)
1	Judul	Pengaruh Metode Eksraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Singkil ( <i>Premna corymbosa</i> Rottl. et Willd) Dengan DPPH Secara Spektrofotometri	Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak daun salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.)	Perbandingan Metode Maserasi Dan Refluks Terhadap Aktifitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.)
2	Sampel (subjek) penelitian	Daun Singkil muda	Daun salam segar	Daun sirsak
3	Variabel penelitian	Aktivitas antioksidan pada daun singkil	Aktivitas antioksidan pada daun salam	Aktivitas antioksidan pada daun sirsak
4	Metode pengujian	Dengan perendaman DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	Dengan perendaman DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	Dengan perendaman DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
5	Hasil	Berdasarkan hasil penelitian dapat	Berdasarkan hasil penelitian	Berdasarkan hasil penelitian

Lanjutan Tabel 1.1 Keaslian

No	Pembeda	Peneliti 1 (Safira, 2017)	Peneliti 2 (Sektiaji, 2018)	Peneliti 3 (Amelia, 2021)
		disimpulkan bahwa metode ekstraksi dengan menggunakan tiga metode tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun singkil.	dapat disimpulkan terdapat pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan pada daun salam.	dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak refluks daun sirsak lebih tinggi daripada ekstrak maserasi.
6	Aspek lain	Menggunakan pelarut etanol 70%	Menggunakan pelarut etanol 70%	Menggunakan pelarut etanol 96%

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

#### 2.1 Tinjauan Pustaka



**Gambar 2.1 Daun Sirsak (Dokumentasi Pribadi, 2020)**

##### 2.1.1 Tanaman Daun Sirsak

###### 1. Klasifikasi

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Sub Divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Ordo : Polycarpiceae
- Famili : Annonaceae
- Genus : Annona
- Spesies : *Annona muricata* L.

(Widyaningrum, 2012)

## 2. Morfologi Daun Sirsak

Sirsak berupa tanaman perdu dengan tinggi sekitar 3-10 m. Tanaman ini memiliki kayu yang keras, tetapi umumnya kecil, agak liat, dan mudah patah. Arah percabangannya tidak menentu dan berserakan sehingga sulit diatur. Daun sirsak berbentuk bulat panjang dengan ujung lancip pendek, berukuran (8-16) cm x (3x7) cm. Tangkai daun panjangnya 3-7 mm. Daun tuanya berwarna hijau tua, sedangkan daun muda berwarna hijau kekuningan. Daun sirsak tebal dan agak kaku dengan urat daun menyerap atau tegak pada urat daun utama. Aroma yang ditimbulkan daunnya terkadang menimbulkan bau yang tidak sedap. Sementara itu, akar tanaman sirsak cukup dalam karena dapat menembus tanah sampai kedalaman 2 m. Daging buahnya berwarna putih susu, rasanya manis-asam dan berbiji kecil (Mardiana, 2013).

## 3. Kandungan Kimia Daun Sirsak

Daun sirsak mengandung annocatain, annocatalin, annohexoin, annonacin, annomuricin, anomurine, anonol, caclourine, gentisic acid, gigantetroin, linoleic acid, serta murica pentocin dan senyawa-senyawa metabolit sekunder berupa saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, tanin, dan alkaloid (Mardiana, 2013).

#### 4. Manfaat Daun Sirsak

Daun sirsak banyak dimanfaatkan untuk mencegah pertumbuhan sel kanker dengan mengkonsumsi air rebusan daun sirsak. Selain itu, daun sirsak juga dimanfaatkan untuk pengobatan demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, antimikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, antispasmodik, anhipertensi, obat pereda nyeri, hipoglikemik dan antikanker (Zuhud, 2011).

#### 2.1.2 Definisi Simplisia

Simplisia merupakan istilah yang dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk.

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan.

Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu :

##### a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya, misalnya *Datura Folium* dan *Piperis nigri Fructus*. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja

dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan/diisolasi dari tanamannya.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum iccoris asselli*) dan madu (*Mel depuratum*).

c. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga. Secara umum pemberian nama atau penyebutan simplisia didasarkan atas gabungan nama spesies diikuti dengan nama bagian tanaman. Contoh : merica dengan nama spesies *Piperis albi* maka nama simplisianya disebut sebagai *Piperis albi Fructus*. Fructus menunjukkan bagian tanaman yang artinya buah (Fatyanti, 2017).

### **2.1.3 Pengelolaan Simplisia**

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan simplisia kering. Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Semakin halus serbuk simplisia, maka proses ekstraksi semakin efektif dan efisien, tetapi akan semakin rumit untuk tahapan filtrasi.

Pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut yang dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung.

Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan pelarut adalah selektifitas, kemudian untuk bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan (Fatyanti, 2017).

### **2.1.4 Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut



diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang ditetapkan (Putri, 2016).

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat aktif dari bagian tanaman obat. Adapun tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat kedalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Lutfiasari, 2016).

### **2.1.5 Metode Ekstraksi**

#### **1. Maserasi**

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Istilah maseration berasal dari bahasa latin *macere*, yang artinya merendam. Jadi maserasi dapat diartikan sebagai proses dimana obat yang sudah halus dapat memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut.

Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan

kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang berada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

Maserasi biasanya dilakukan pada suhu antara 15°C-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat aktif yang dikehendaki larut. Kecuali dinyatakan lain, maserasi dilakukan dengan cara merendam 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat kehalusan tertentu, dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangi dengan 70 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 3-5 hari pada tempat yang terlindung dari cahaya. Diaduk berulang-ulang, diserukai dan diperas. Ampas dari maserasi dicuci menggunakan cairan penyari secukupnya sampai

diperoleh 100 bagian sari. Bejana ditutup dan dibiarkan selama 2 hari di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya matahari kemudian pisahkan endapan yang diperoleh. Maserasi merupakan metode sederhana dan paling banyak digunakan karena metode ini sesuai dan baik untuk skala kecil maupun skala industri (Marjoni, 2016).

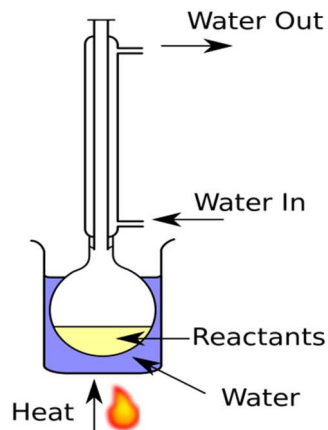
Menurut Farmakope Indonesia, pelarut yang dapat digunakan pada maserasi adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol karena etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut diantaranya menurut Marjoni (2016) yaitu:

- a. Etanol bersifat lebih selektif
- b. Dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman
- c. Bersifat non toksik (tidak beracun)
- d. Etanol bersifat netral
- e. Memiliki daya absorpsi yang baik
- f. Dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan
- g. Panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit
- h. Etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak.

## 2. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada rafinat pertama. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat di ekstrak dengan metode ini. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Irawan, 2010).

Prinsip kerja pada metode refluks yaitu penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan kedalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna, pergantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan (Akhyar, 2010).



**Gambar 1.2 Metode Ekstraksi Refluks**

### **2.1.6 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan komponen dalam suatu sampel dimana komponen tersebut didistribusikan diantara dua fase diam dan fase gerak. Fase diam adalah fase yang menahan cuplikan secara efektif. Contoh fase diam adalah silika gel ( $\text{SiO}_2$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), kieselgur (tanah diatom), selulosa, poliakrilamid. Kebanyakan penjerap atau fase diam yang digunakan adalah silika gel karena telah tersedia plat yang siap pakai, merupakan fase diam yang paling banyak digunakan dan paling populer, mempunyai daya pemisahan yang baik dan dapat memisahkan semua jenis senyawa. Fase gerak adalah fase yang membawa cuplikan. Fase gerak yang digunakan adalah sistem pelarut multikomponen, berupa suatu campuran sederhana, terdiri atas maksimum tiga komponen. Syarat eluen yang baik yaitu

mempunyai kemurnian yang cukup, stabil, viskositas rendah, tekanan uap tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah, saling campur, tidak ada kekeruhan dan toksisitas rendah (Wulandari, 2017).

Prinsip kerja KLT adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip absorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia yang tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan (Putri, 2016).

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

(Rahmawati, 2015)

Harga  $R_f$  dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi senyawa. Bila identifikasi harga  $R_f$  memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Sedangkan, bila harga  $R_f$  nya berbeda, senyawa tersebut dapat dikatakan merupakan senyawa yang berbeda (Riza, 2016).

Harga  $R_f$  biasanya berkisar antara 0,00 – 1,00 dan harga  $R_f$  sangat berguna untuk mengidentifikasi suatu senyawa. Faktor-faktor

yang mempengaruhi harga Rf yaitu struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap, tebal dan kerataan lapisan penyerap, pelarut dan derajat kemurniannya, derajat kejenuhan uap pengembang dalam bejana, teknik percobaan, jumlah cuplikan yang digunakan dan suhu (Marjoni, 2016).

### **2.1.7 Antioksidan**

Antioksidan adalah substansi yang menunda dan menghambat kerusakan oksidatif sebuah molekul. Pada suatu waktu pada suatu waktu antioksidan dapat bereaksi dengan satu radikal bebas dan sanggup menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan satu dari elektronnya. Antioksidan mencegah sel dan kerusakan jaringan. Sel memproduksi pertahanan melawan kelebihan radikal bebas dengan mekanisme pencegahan, mekanisme perbaikan, pertahanan fisik dan pertahan antioksidan (Hidayati, 2017).

Mekanisme kerja antioksidan adalah memutuskan rantai reaksi pembentukan radikal bebas dengan mentransfer atom H, contohnya  $\alpha$ -tokoferol, mengurangi konsentrasi oksigen reaktif contohnya glutation, mengurangi radikal bebas pada tahap inisiasi atau bersifat sebagai pemulung, contohnya superoksida dismutase dan mengkelat katalis logam transisi ( $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$ ), contohnya flavonoid dan fenol (Kumar, 2011).

Antioksidan adalah komponen atau sistem yang menghambat formasi dan radikal bebas atau memotong perambatan dari radikal bebas oleh satu atau beberapa mekanisme (Brewer, 2011) :

1. Mencari spesies yang memulai peroksidasi.
2. Pengkelatan ion logam seperti yang tidak dapat menghasilkan spesies reaktif atau peruraian peroksidase.
3. Pendinginan O<sub>2</sub> pembentuk peroksidase.
4. Memotong reaksi berantai autosidatif.
5. Mengurai konsentrasi O<sub>2</sub>.

### **2.1.8 Metode Uji Antioksidan dengan Metode DPPH**

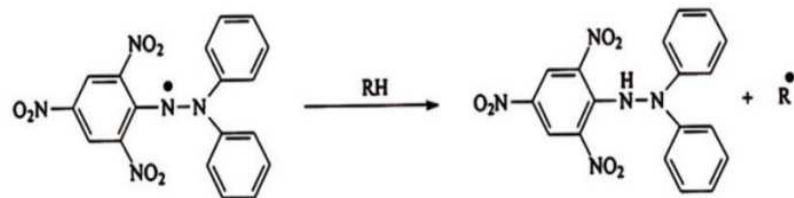
Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan cara menggunakan radikal bebas yang stabil  $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$  picrylhydrazyl (DPPH; C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, M=394,33). Metode ini berdasarkan kemampuan kapasitas pencarian antioksidan. Elektron ganjil dari atom nitrogen dalam DPPH direduksi dengan menerima atom hidrogen dari antioksidan (Kedare dan Singh, 2011).

DPPH (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) merupakan senyawa organik yang mempunyai nitrogen tidak stabil, berwarna ungu gelap dan memiliki absorpsi kuat pada gelombang  $\lambda$  max 517 nm (Sayuti dan Yenrina, 2015). Aktivitas DPPH dari zat antioksidan didasarkan pada kemampuan zat antioksidan dalam menetralkan radikal DPPH



dengan cara menyumbangkan protonnya sehingga membentuk radikal yang lebih stabil. Penambahan zat yang bersifat antioksidan akan menyebabkan berkurangnya warna ungu dari larutan DPPH dan semakin aktif zat yang ditambah maka larutan DPPH akan berubah menjadi warna semakin kuning (Muharni dkk. 2013).

Berikut reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan:



DPPH Radikal (ungu)

DPPH Stabil (kuning)

*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*

*2,2-diphenyl-1-Picrylhydrazyl*

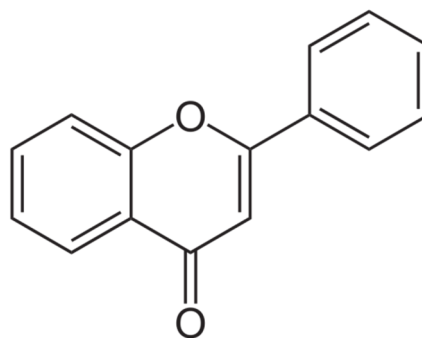
**Gambar 2.2 Reaksi Perendaman Radikal Bebas DPPH oleh Senyawa Antioksidan (Yuhernita dan Juniarti, 2011).**

Campuran reaksi berupa larutan pada sampel dengan radikal bebas DPPH yang dilarutkan dalam metanol dan diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit dan dibaca pada panjang gelombang 400-600 nm. Sehingga penambahan senyawa yang bereaksi sebagai antioksidan akan menurunkan konsentrasi DPPH. Pengurangan intensitas warna tersebut disebabkan oleh bereaksinya molekul radikal DPPH dengan satu atom hidrogen yang dilepas oleh sampel sehingga terbantuknya senyawa DPPH yang berwarna kuning stabil.

Senyawa flavonoid yang terdapat dalam sampel kehilangan atom hidrogen yang akan menjadi radikal bebas baru yang stabil dan tidak reaktif (Afrianti, 2010).

### 2.1.9 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia  $C_6-C_3-C_6$ . Berbagai jenis senyawa kandungan dan aktivitas flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada jenis padi-padian (sereal), sayur-sayuran dan buah yang telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan alami dengan cara mendonasikan atom hidrogen atau melalui kemampuan sebagai senyawa kelat logam berada dalam bentuk glukosa (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas disebut aglikon (Redha, 2010).



**Gambar 2.3 Struktur Umum Senyawa Flavonoid**

Flavonoid mempunyai gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi yang merupakan senyawa polar, umumnya larut dalam pelarut seperti etanol, metanol, butanol, air dan lain-lain. Adanya aglikon yang terikat pada senyawa flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut air. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon dan flavanol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut eter, kloroform dan n-heksana (Gafur et al. 2010).

Setiap grup flavonoid memiliki kapasitas antioksidan. Flavon dan catechin rasanya menjadi flavonoid paling kuat untuk melindungi tubuh dari spesies reaktif oksigen. Sel tubuh dan jaringan secara terus menerus terancam mengalami kerusakan disebabkan radikal bebas dan spesies reaktif oksigen yang diproduksi selama mekanisme oksigen normal atau diinduksi kerusakan oksigen (Hidayat, 2017).

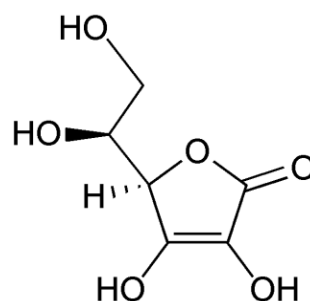
#### **2.1.10 Vitamin C**

Vitamin C pertama kali ditemukan oleh A. Sient, P. Gyorgy dan G. King pada tahun 1932. Vitamin C merupakan vitamin yang termasuk dalam kelompok vitamin yang mudah larut dalam air dan dikenal sebagai vitamin antiaskorbut karena berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit skorbut. Menurut sifat fisika dan kimia vitamin C merupakan vitamin yang dapat dibentuk oleh beberapa

jenis spesies tanaman atau hewan dari prekursor karbohidrat. Pada manusia tidak dapat mensintesis vitamin C dalam tubuhnya, karena tubuh manusia tidak memiliki enzim L-gulonolakton oksidase. Sehingga manusia memerlukan vitamin C dari luar tubuh untuk memenuhi kebutuhannya (Fatyanti, 2017).

Vitamin C sesuai dengan struktur kimianya disebut juga asam askorbat (*Ascorbic Acid*) merupakan vitamin yang tidak mengandung gugus amina dan tergolong vitamin yang paling sederhana, dapat dilarutkan dalam air dan mudah dihancurkan oleh suhu tinggi, mudah teroksidasi oleh oksigen udara atau sedikit tembaga (Fatyanti, 2017).

Asam askorbat atau vitamin C dikenal sebagai sumber antioksidan yang sangat kuat, dapat mendonorkan atom hidrogen dan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif stabil (Muchtady, 2012). Asam askorbat yang biasa digunakan sebagai standar dalam penentuan kapasitas antioksidan dengan satuan AEAC (Winarsi, 2011).



**Gambar 2.4 Struktur Umum Vitamin C**

### 2.1.11 IC<sub>50</sub> (*Inhibitor concetration fifty*)

IC<sub>50</sub> merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) (Mailandari, 2012). Parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH adalah nilai *Inhibition Concentration* (IC<sub>50</sub>). Nilai IC<sub>50</sub> merupakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dengan persen peredaman. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas antioksidan semakin tinggi, sebaliknya semakin besar nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas antioksidan semakin rendah (Taek, 2018).

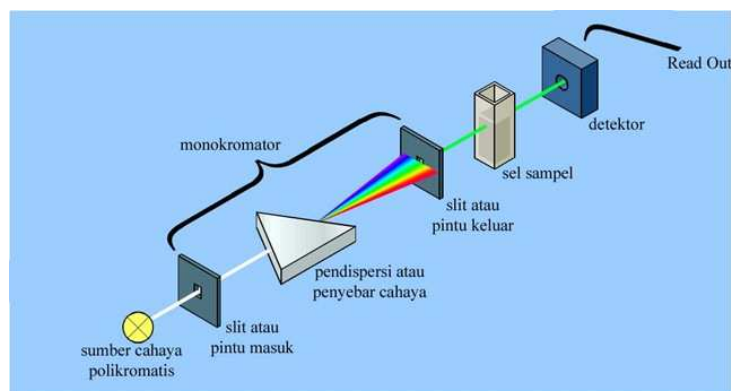
**Tabel 2.1 Tingkatan aktivitas antioksidan (Kurniasih dkk. 2015)**

<b>Nilai</b>	<b>Tingkatan</b>
IC <sub>50</sub> < 50 µg/ml	Sangat Kuat
IC <sub>50</sub> 50 – 100 µg/mL	Kuat
IC <sub>50</sub> 100 – 150 µg/mL	Sedang
IC <sub>50</sub> 151 – 200 µg/mL	Lemah

### 2.1.12 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer merupakan alat mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, sering disebut dengan metode spektrofotometri. Prinsip dasar pada spektrofotometri adalah sampel harus jernih dan larut sempurna. Tidak ada partikel koloid apalagi suspensi (Aditya, 2015).

Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul didalam larutan. Ketika panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Absorpsi adalah perbandingan intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang. Nilai absorpsi ini akan bergantung pada kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel, maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada gelombang tertentu sehingga nilai absorpsi semakin besar (Neldawati dkk. 2013).



**Gambar 2.5 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis**

## Komponen-komponen spektrofotometer UV-Vis :

### 1. Sumber Sinar

Lampu deuterium digunakan untuk menyerap di spektrum ultraviolet pada panjang gelombang dari 200-400 nm, sedangkan untuk sinar tampak digunakan lampu tungsten untuk daerah visibel panjang gelombang 400-750 nm.

### 2. Monokromator

Monokromator digunakan untuk mendispersikan sinar polikromatik yakni sinar dengan beberapa panjang gelombang, selanjutnya akan dipilih oleh celah. Dua jenis monokromator dalam spektrofotometer modern yaitu; prisma dan kisi 16 difraksi. Prisma adalah suatu lempeng kuarsa yang membiaskan sinar yang dilaluinya. Kisi difraksi merupakan kepingan kecil gelas bercermin yang didalamnya terdapat sejumlah garis yang berjarak sama terpotong-potong.

### 3. Kuvet (wadah sampel)

Wadah sampel yang akan dianalisis, dipakai untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif pada pengukuran 190-400 nm dan kuvet berbahan gelas pengukuran 380-800 nm yang dapat mengabsorpsi radiasi UV.

#### 4. Detektor

Setelah sinar melalui sampel, maka penurunan intensitas apapun disebabkan oleh absorpsi diukur dengan suatu detektor. Detektor merupakan kepingan elektronik yang disebut dengan tabung pengganda foton yang beraksi untuk mengubah intensitas berkas sinar kedalam sinyal elektrik yang dapat diukur dengan mudah, dan juga dapat beraksi sebagai suatu pengganda (*amplifier*) untuk meningkatkan kekuatan sinyal. Dalam hal ini, suatu aliran elektron dihasilkan dan sinyal dikuatkan (Gandjar dkk. 2012).

## 2.2 Hipotesis

1. Adanya perbedaan antara metode maserasi dan refluks pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap aktivitas antioksidan.
2. Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Objek Penelitian**

Objek dari penelitian ini adalah perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak dengan perendaman DPPH (1,1 –Difenil-2-Pikrilhidrazil).

#### **3.2 Sampel dan Teknik Sampling**

Sampel yang digunakan adalah daun sirsak yang diperoleh dari Desa Gumalar Kabupaten Tegal. Teknik sampling yang digunakan yaitu *purposive sampling*. *Purposive sampling* merupakan teknik untuk menentukan sampel penelitian dengan beberapa pertimbangan tertentu yang bertujuan agar data yang diperoleh nantinya bisa lebih representatif (Sugiyono, 2010).

#### **3.3 Variabel Penelitian**

##### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas merupakan variabel yang menjadi sebab timbulnya atau berubahnya variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode maserasi dan refluks.

##### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak.

### **3.3.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkontrol merupakan variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga tidak akan mempengaruhi variabel yang akan diteliti oleh peneliti. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah asal tanaman, uji kualitatif, metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan metode Spektrofotometri UV-Vis.

## **3.4 Teknik Pengumpulan Data**

### **3.4.1 Cara Pengumpulan Data**

1. Jenis data yang digunakan bersifat kualitatif dan kuantitatif.
2. Metode pengumpulan data menggunakan eksperimen laboratorium.

### **3.4.2 Alat dan Bahan**

1. Alat

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah refluks, chamber, objek glass, deg glass, beaker glass, batang pengaduk, labu ukur, timbangan analitik, tabung reaksi, kertas saring, cawan petri, bunsen, mikroskop dan spektrofotometri UV-Vis.

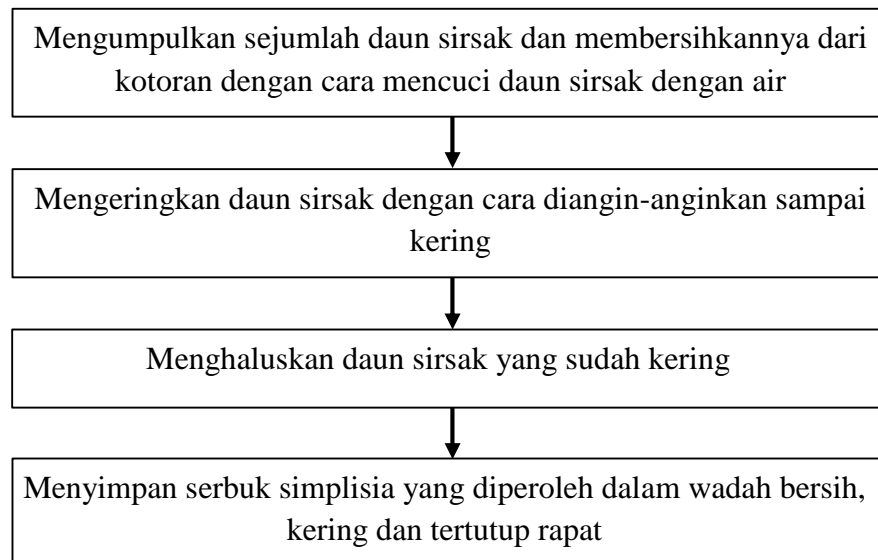
2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak, etanol 96 %, DPPH, HCl pekat, serbuk Mg, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, methanol dan aquadest.

### 3.5 Cara Kerja

#### 1. Pengambilan Sampel

Tanaman daun sirsak ini dipetik langsung dari pohonnya di Desa Gumalar Kabupaten Tegal. Daun sirsak dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran yang menempel, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup rapat.

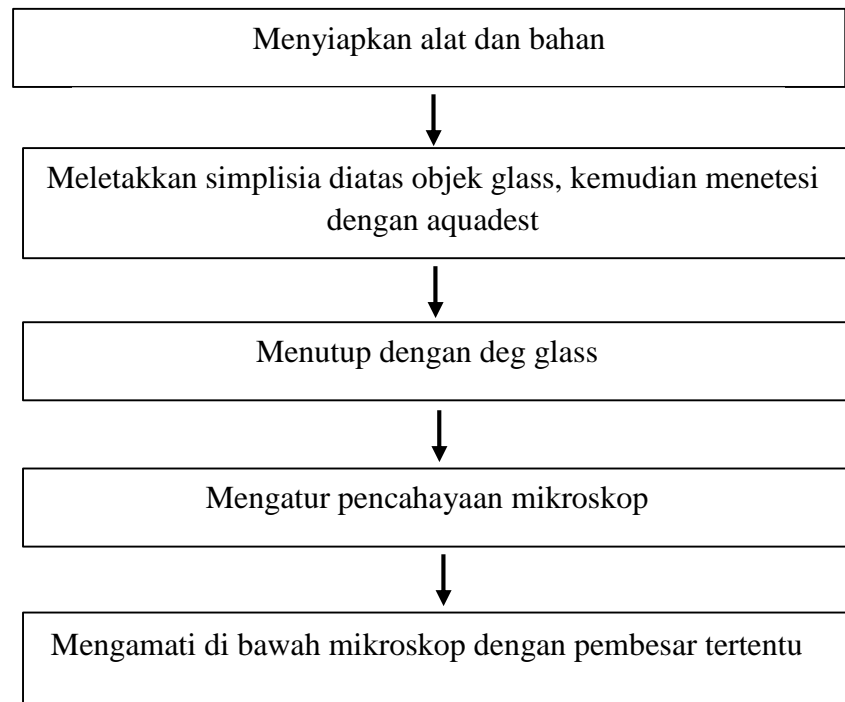


**Gambar 3.1 Skema Pengambilan Sampel**

#### 2. Pemeriksaan Makroskopik Dan Mikroskopik

Pengujian makroskopik dilakukan secara organoleptik meliputi paparan mengenai sifat zat secara umum terutama wujud, rupa, warna dan bau (Rustamsyah, 2015).

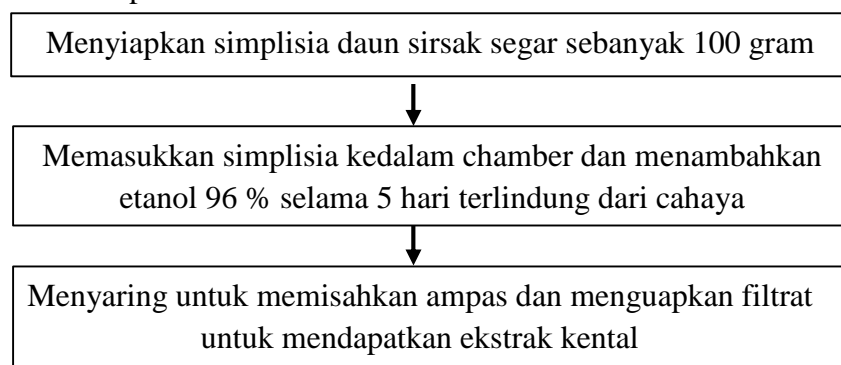
Pada pengujian mikroskopik, simplisia diamati melalui mikroskop dengan menggunakan air.



**Gambar 3.2 Skema Pemeriksaan Mikroskopik**

### 3. Ekstraksi Daun Sirsak Dengan Metode Maserasi

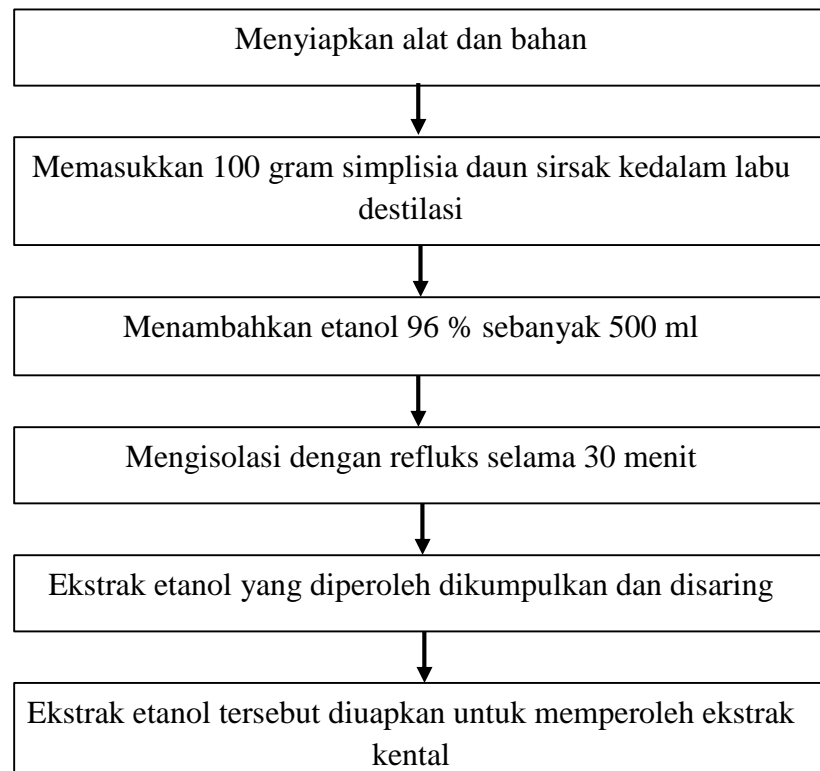
Pembuatan ekstrak maserasi daun sirsak dilakukan dengan menimbang simplisia sebanyak 100 gram dan menambahkan etanol 96 %, perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1:5. Selanjutnya serbuk dibiarkan terendam selama 5 hari dan diaduk setiap hari selama 5 menit kemudian disaring (Muawwanah, 2015). Setelah itu ekstrak diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental.



**Gambar 3.3 Skema Ekstraksi Dengan Metode Maserasi**

#### 4. Ekstraksi Daun Sirsak Dengan Menggunakan Metode Refluks

Menyiapkan alat dan bahan untuk mengekstraksi. Pembuatan ekstrak daun sirsak dilakukan dengan 100 gram serbuk daun sirsak dengan 500 mL etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5 (simplisia : etanol) (Maulida, 2018). Kemudian diisolasi dengan metode refluks selama 30 menit. Setelah itu disaring dalam keadaan dingin menggunakan kain flanel untuk mendapatkan filtrate dalam jumlah maksimal. Selanjutnya ekstrak diuapkan hingga menjadi ekstrak kental.

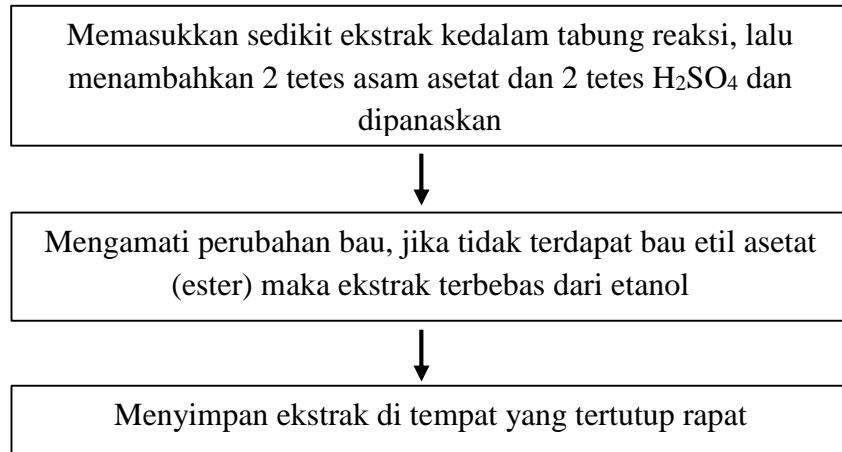


**Gambar 3.4 Skema Ekstraksi Dengan Metode Refluks**

#### 5. Uji Bebas Etanol

Melakukan uji bebas etanol pada ekstrak dengan cara memasukkan sedikit ekstrak ke dalam tabung reaksi, lalu menambahkan 2 tetes asam

asetat dan 2 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dan dipanaskan. Kemudian mengamati perubahan bau, jika tidak terdapat bau etil asetat (ester) maka ekstrak tersebut terbebas dari etanol (Setktiaji, 2018).



**Gambar 3.5 Skema Uji Bebas Etanol**

## 6. Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (Y)}}{\text{Berat Sampel (X)}} \times 100 \%$$

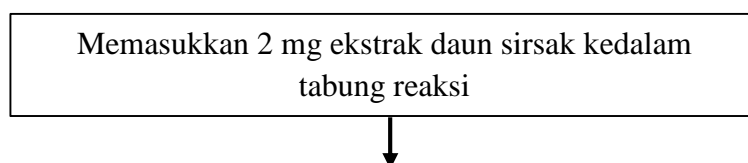
Keterangan :

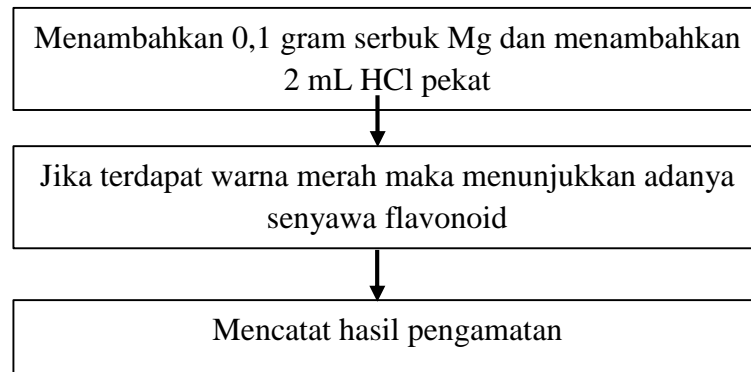
Y = Berat Ekstrak

X = Berat Sampel

## 7. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Memasukkan 2 mg ekstrak daun sirsak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 2 mL. Jika terdapat warna merah maka menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Latifah, 2015).





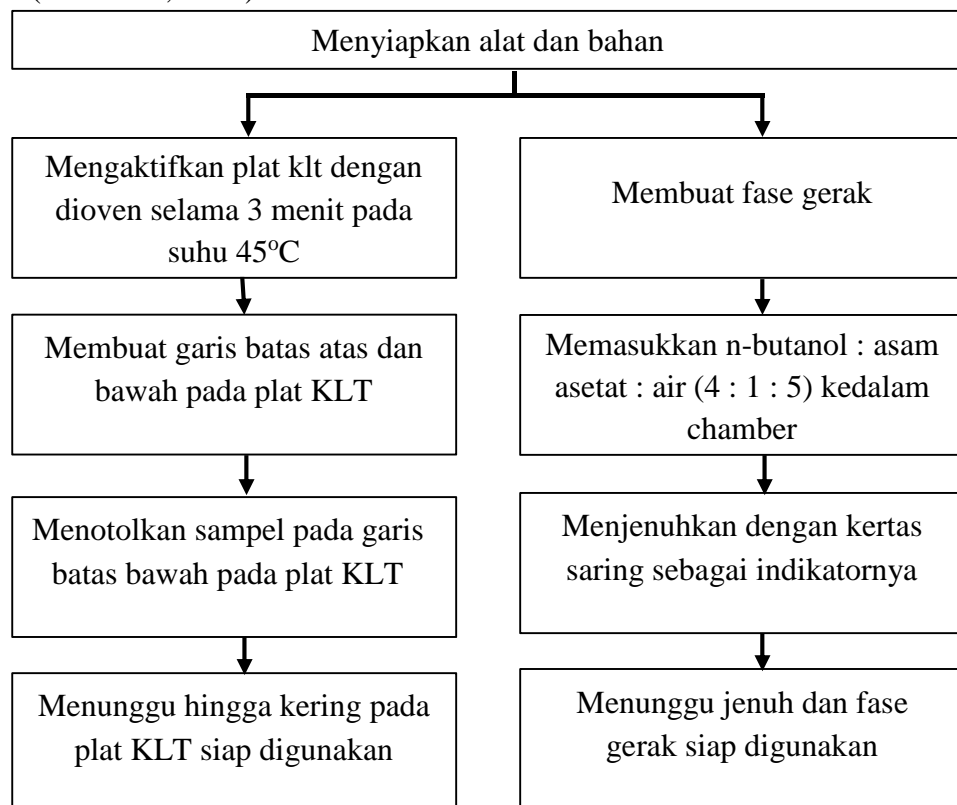
**Gambar 3.6 Skema Identifikasi Senyawa Flavonoid**

## **8. Uji Kromatografi Lapis Tipis**

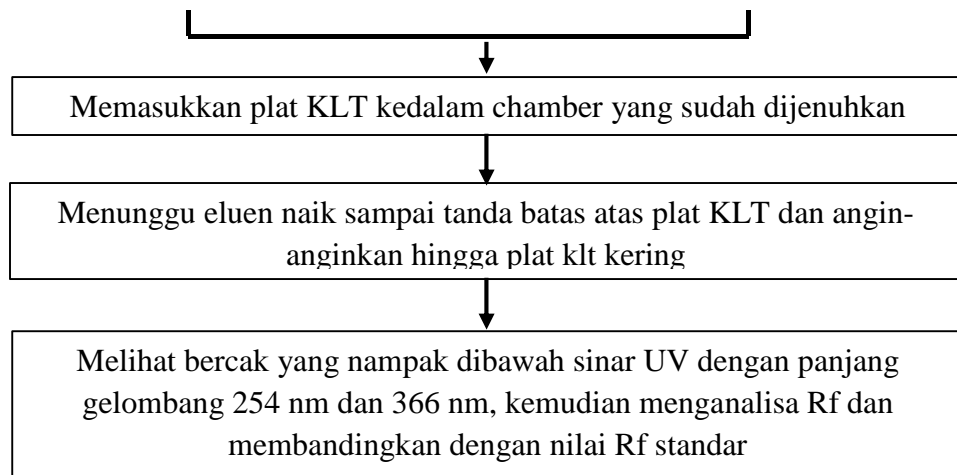
Setelah mendapatkan hasil rendemen, kemudian dilakukan uji senyawa fenolat dengan menggunakan metode KLT. Kemudian dilakukan pengovenan terlebih dahulu pada plat KLT lapis silica gel selama 3 menit pada suhu 45 °C untuk mengurangi kadar air dalam plat KLT. Selanjutnya plat KLT yang telah di oven, diberi garis batas atas dan garis batas bawah masing-masing berukuran 1 cm untuk mempermudah penotolan dan mengetahui jarak pelarut yang ditempuh sehingga mempermudah dalam perhitungan Rf. Kemudian membuat fase gerak dengan mengambil n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5), dimasukkan kedalam chamber dan dijenuhkan. Penjenuhan bertujuan agar seluruh permukaan didalam bejana terisi uap eluen sehingga rambatan yang dihasilkan oleh silica baik dan beraturan. Untuk mengetahui chamber yang berisi fase gerak telah jenuh maka didalam chamber diberi kertas saring pada proses elusi, silica gel akan mengabsorpsi fase gerak. Proses selanjutnya memasukkan plat KLT

yang sebelumnya telah ditotolkan sampel kedalam chamber yang sudah jenuh.

Pada proses ini sampel akan bergerak naik melewati butiran silica gel dan pergerakan sampel akan diikuti oleh senyawa yang diidentifikasi. Setelah proses elusi, lempeng silica gel selesai ditandai dengan naiknya eluen sampai garis batas atas, angkat plat KLT dan keringkan dengan cara diangin-anginkan. Kemudian dilihat penampakan noda pada lampu sinar UV 254 dan 366 nm. Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah banyak ditandai dengan munculnya noda. Syarat noda yang baik yaitu bentuk noda tidak berekor dan jarak noda satu dengan noda yang lainnya jelas. Proses selanjutnya menganalisa  $R_f$  dan membandingkan dengan  $R_f$  standar teoritis (Lutfiasari, 2016).



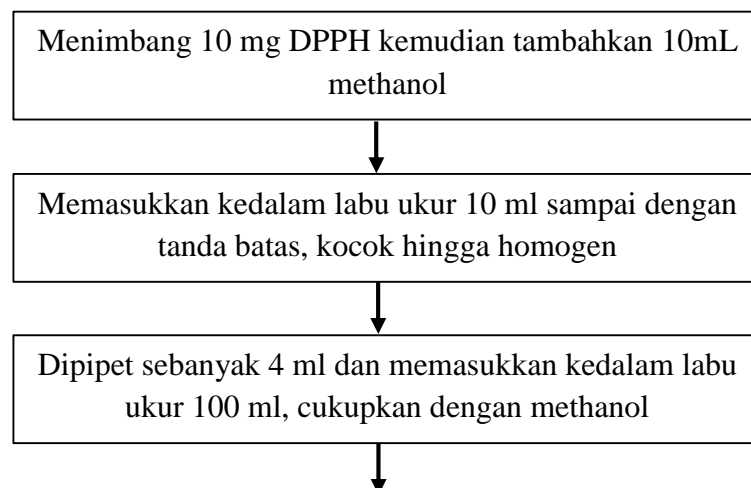




**Gambar 3.7 Skema Uji Kromatografi Lapis Tipis**

## 9. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan DPPH dengan konsentrasi  $40 \mu\text{g/ml}$  dalam methanol yang dibuat segar serta terlindung dari cahaya. Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dengan methanol dalam labu ukur 10 ml, kocok hingga homogen. Selanjutnya dipipet sebanyak 4 mL dimasukkan ke labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan methanol sampai batas dan didapatkan larutan pereaksi dengan konsentrasi  $40 \mu\text{g/ml}$ . Berikut cara pembuatan larutan DPPH secara skematis:

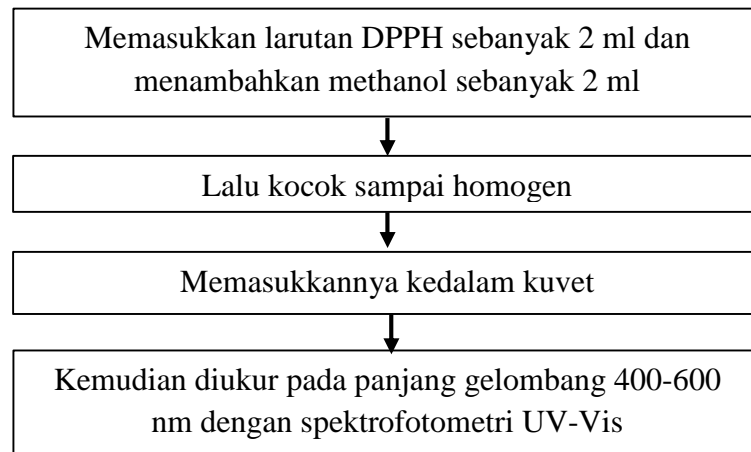


Didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi 40  
 $\mu\text{g/ml}$

**Gambar 3.8 Skema Pembuatan Larutan DPPH**

#### 10. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Memasukkan sebanyak 2 mL larutan DPPH kedalam tabung reaksi. Lalu menambahkan 2 mL methanol dan kocok sampai homogen. Kemudian menuanginya kedalam kuvet dan diukur pada gelombang 400-600 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

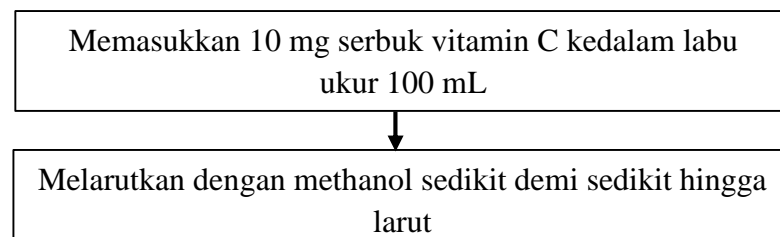


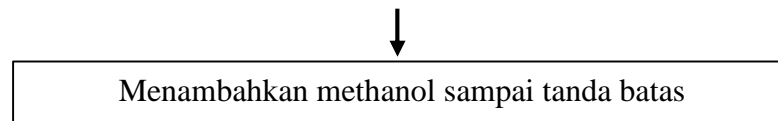
**Gambar 3.9 Skema Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH**

#### 11. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C (100 ppm) Sebagai Kontrol

##### Positif

Sebanyak 10 mg serbuk vitamin C dimasukkan kedalam labu ukur berukuran 100 mL, kemudian dilarutkan menggunakan methanol sedikit demi sedikit sampai tanda batas.

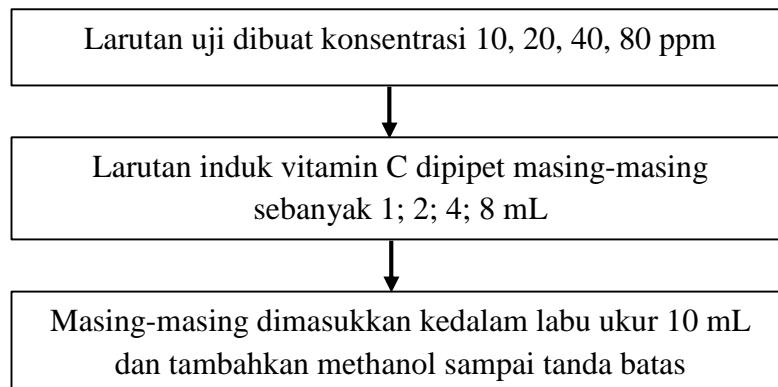




**Gambar 3.10 Skema Pembuatan Larutan Induk Vitamin C**

### 12. Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C (10, 20, 40, 80)

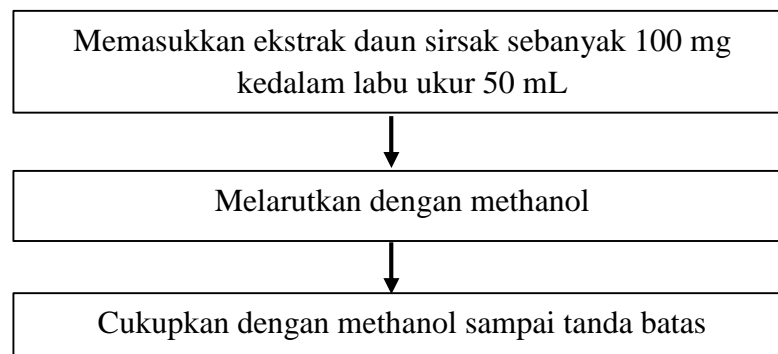
Larutan induk vitamin C masing-masing dipipet sebanyak 1, 2, 4, 8 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL. Kemudian volume dicukupkan dengan methanol sampai tanda batas.



**Gambar 3.11 Skema Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C**

### 13. Pembuatan Larutan Induk 2000 ppm

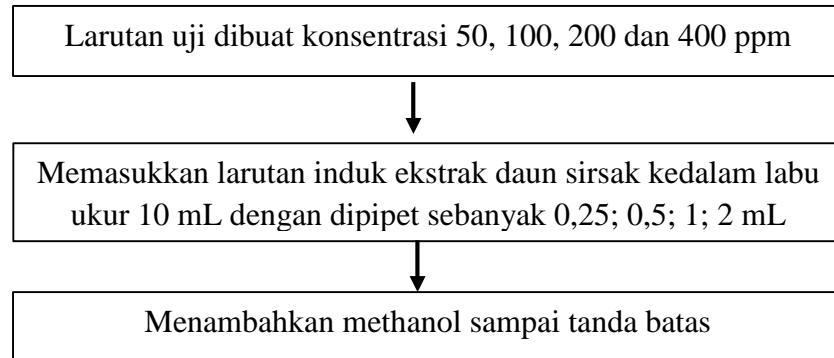
Ekstrak daun sirsak ditimbang sebanyak 100 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dengan methanol sedikit demi sedikit sampai tanda batas.



**Gambar 3.12 Skema Pembuatan Larutan Induk 2000 ppm**

#### 14. Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi 50, 100, 200, 400 ppm

Ekstrak daun sirsak masing-masing dipipet sebanyak 0,25; 0,5; 1; 2 mL dan memasukkannya kedalam labu ukur 10 mL, kemudian menambahkan methanol sampai tanda batas.

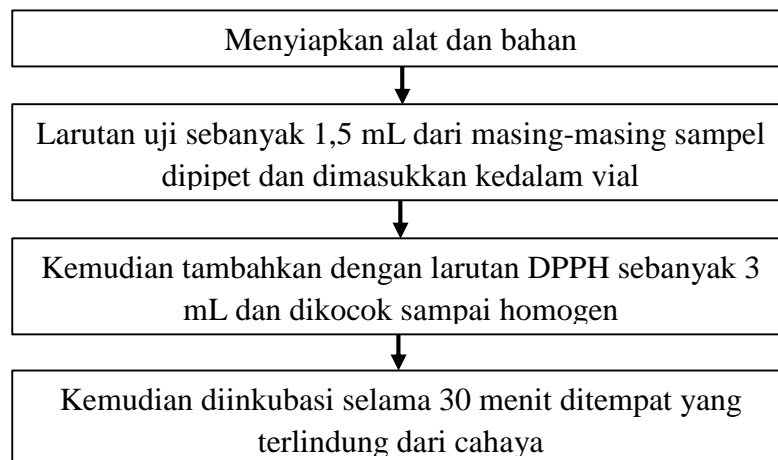


**Gambar 3.13 Skema Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi**

#### 15. Penentuan Aktivitas Antioksidan Menggunakan Larutan DPPH

Larutan uji sebanyak 1,5 mL dari masing-masing sampel dipipet dan dimasukkan kedalam vial, kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH sebanyak 3 mL dan dikocok sampai homogen, kemudian diinkubasi selama 30 menit ditempat yang terlindung dari cahaya.

Dibaca serapannya pada gelombang yang telah ditetapkan.



**Gambar 3.14 Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan**

## 16. Analisa Data Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dinyatakan dengan nilai perendaman DPPH % inhibisi, semakin besar nilai perendamannya maka akan semakin besar juga nilai aktivitas antioksidannya. Prosentase aktivitas penghambatan DPPH pada masing-masing ekstrak daun sirsak dinyatakan dengan rumus :

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

Nilai  $IC_{50}$  didapat dari hubungan antara log konsentrasi dan probit secara regresi linier. Nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%. Kemudian  $IC_{50}$  dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dengan log konsentrasi larutan uji sebagai sumbu x dan probit dengan persentase aktivitas antioksidan sebagai sumbu y. Untuk mendapatkan hasil yang baik, maka dalam penelitian ini menggunakan probit. Probit digunakan untuk menganalisis hubungan antara satu variabel dependen dengan beberapa variabel independen, dengan variabel dependennya berupa data kualitatif dikotomi yaitu bernilai 0 dan 1 (Wulandari & Sutanto, 2013). Nilai  $IC_{50}$  ditentukan dengan probit yang diperoleh konversi % inhibisi kedalam nilai probit, sedangkan nilai konsentrasi diubah kedalam log konsentrasi. Nilai  $IC_{50}$  merupakan antilog pada nilai probit 50. Dari persamaan  $y = ax + b$  dapat dihitung nilai  $IC_{50}$  dengan menggunakan rumus:

$$y = ax + b$$

$$50 = ax + b$$

$$(x) IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

(Amelia, 2011)

### 3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan deskriptif dengan cara membandingkan antara hasil ekstraksi maserasi dan refluks dengan metode DPPH.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

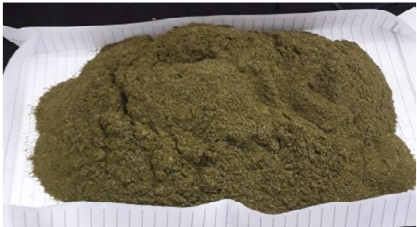
Pada penelitian ini bertujuan untuk membandingkan antara metode maserasi dan refluks terhadap aktivitas antioksidan dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). Penggunaan metode maserasi digunakan karena sederhana dan sering digunakan masyarakat dalam pengujian antioksidan, sedangkan efek panas yang dihasilkan dari metode refluks dapat memudahkan senyawa terekstraksi. Alasan menggunakan metode maserasi karena dapat menarik semua metabolit sekunder termasuk yang tidak tahan terhadap pemanasan. Sedangkan alasan menggunakan metode refluks karena pengaruh panas pada refluks dapat membantu proses difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan sehingga penarikan senyawa lebih maksimal (Hasanah dkk. 2016). Pada penelitian ini dilakukan uji flavonoid dengan uji warna serta KLT sedangkan untuk uji aktivitas antioksidan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Harapan Bersama Kota Tegal.

Tahap awal dalam pembuatan serbuk daun sirsak yaitu daun sirsak dipetik dari Desa Gumalar, kemudian dicuci bersih agar zat pengotornya hilang. Selanjutnya daun sirsak dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, simplisia daun sirsak dihaluskan dengan cara diblender dan diayak agar mendapatkan serbuk yang halus. Presentase bobot kering terhadap bobot basah yang dihasilkan yaitu 6,81 %.

Selanjutnya, untuk memastikan penelitian ini menggunakan daun sirsak maka dilakukan uji makroskopik dan mikroskopik. Hasil dari uji makroskopik dan mikroskopik sebagai berikut:


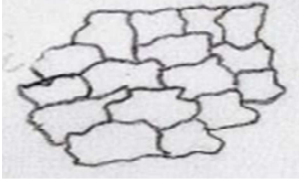

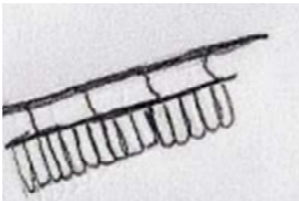
**Tabel 4.1 Uji Makroskopik**

Sampel	Pustaka (Surbakti, 2019)
Bentuk : Serbuk	Bentuk : Serbuk
Bau : Beraroma khas	Bau : Beraroma khas
Warna : Hijau muda-tua	Warna : Hijau muda-tua
Rasa : Pahit sedikit getir	Rasa : Pahit sedikit getir




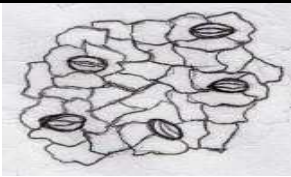

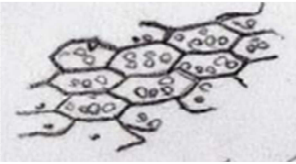

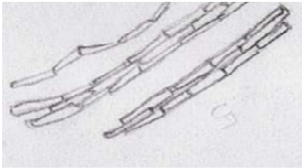



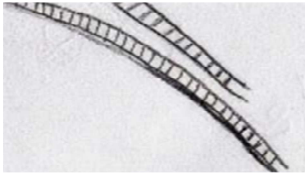
Sedangkan uji mikroskopis dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 4. 2 Uji Mikroskopik**

No.	Hasil Uji Mikroskopik	Pustaka (Sinurat, 2011)
1.		 Epidermis Atas
2.		 Jaringan Palisade



---

3.		
		Stomata Tipe Anomositik
4.		
		Parenkim Bernoktah
5.		
		Serabut
6.		
		Rambut Penutup
7.		
		Pembuluh Kayu dengan Penebalan Tangga

---

Berdasarkan hasil uji makroskopik dan mikroskopik diatas menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah daun sirsak. Hal ini sesuai dengan pustaka yang ada. Maka langkah selanjutnya yaitu dilakukan pengestrasian terhadap serbuk daun sirsak.

Penelitian ini menggunakan metode maserasi dan refluks untuk mengambil ekstrak dari daun sirsak. Metode yang pertama yaitu maserasi dengan



perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1 : 5 , sehingga serbuk daun sirsak yang digunakan yaitu 100 gram dengan penambahan pelarut yaitu etanol 96% sebanyak 500 mL. Penggunaan etanol 96% dikarenakan pelarut etanol mempunyai sifat yang mampu melarutkan hampir semua zat-zat baik bersifat polar, semipolar dan nonpolar (Aminah dkk 2016). Selanjutnya, serbuk daun sirsak dan pelarut dimasukkan kedalam toples kaca dan ditutupi dengan plastik hitam agar terhindar dari cahaya. Waktu yang diperlukan untuk melakukan proses maserasi yaitu 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian difiltrasi dan diuapkan agar kandungan etanol didalamnya menghilang. Pada penelitian ini didapat ekstrak maserasi sebanyak 3,86 gram sehingga rendemen yang didapat 3,86 %.

Metode yang digunakan selanjutnya yaitu refluks dengan perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1 : 5, sehingga serbuk daun sirsak yang digunakan sebanyak 100 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 500 mL. Penggunaan etanol 96% dikarenakan etanol mampu melarutkan hampir semua zat-zat yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar. Selanjutnya, serbuk daun sirsak dan pelarut dimasukkan kedalam labu alas bulat kemudian diisolasi dengan metode refluks. Proses refluks dilakukan selama 30 menit (Maulida, 2018). Ekstrak yang diperoleh kemudian difiltrasi dan diuapkan untuk menghilangkan kandungan etanol. Pada penelitian ini didapat ekstrak refluks sebanyak 3,15 gram sehingga rendemen yang didapat 3,15 %.

Untuk membuktikan bahwa ekstrak tersebut benar-benar telah bebas dari etanol, maka dilakukan uji bebas etanol dengan menggunakan pereaksi  $H_2SO_4$  pekat dan asam asetat kemudian mengamati bau yang terjadi. Apabila bau yang

ditimbulkan adalah bau ester maka ekstrak tersebut belum terbebas dari etanol dan perlu dilakukan penguapan kembali, namun jika bau yang ditimbulkan adalah bau khas ekstrak maka ekstrak tersebut telah terbebas dari etanol (Sektiaji, 2018). Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu agar tidak mempengaruhi pengujian selanjutnya.

**Tabel 4. 3 Uji Bebas Etanol**

No.	Pengamatan	Pustaka (Sektiaji, 2018)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1.	2 tetes ekstrak maserasi + 2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + asam asetat, dipanaskan kemudian amati bau	Tidak berbau ester	Tidak berbau ester, bau khas ekstrak maserasi daun sirsak	+	
2.	2 tetes ekstrak refluks + 2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + asam asetat, dipanaskan kemudian amati bau	Tidak berbau ester	Tidak berbau ester, bau khas ekstrak refluks daun sirsak	+	

Keterangan :

+ : Ekstrak daun sirsak dari kedua metode ekstraksi bebas dari etanol.

Setelah dilakukan uji bebas etanol, langkah selanjutnya yaitu melakukan uji flavonoid dengan diidentifikasi secara uji warna. Ekstrak daun sirsak yang diperoleh dengan metode maserasi dan refluks kemudian diidentifikasi dengan

menggunakan serbuk Mg dan HCl pekat. Hasil uji identifikasi yang diperoleh sebagai berikut :

**Tabel 4. 4 Hasil Uji Identifikasi Flavonoid**

No.	Pengamatan	Pustaka (Latifah, 2015)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1.	Ekstrak daun sirsak dengan maserasi + 0,1 g serbuk Mg + 2 mL HCl pekat	Merah	Merah Pekat	+	
2.	Ekstrak daun sirsak dengan maserasi + 0,1 g serbuk Mg + 2 mL HCl pekat	Merah	Merah Pekat	+	

Keterangan :

- + : Ekstrak daun sirsak dari kedua metode ekstraksi tersebut mengandung flavonoid.

Hasil uji identifikasi flavonoid dengan menggunakan serbuk Mg dan HCl pekat didapatkan hasil positif yaitu berwarna merah. Penambahan HCl bertujuan menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon flavonoid dengan cara menghidrolisis aglikon. Serbuk Mg yang ditambahkan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah. Ion magnesium ini diduga akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak sehingga menimbulkan warna merah (Latifah, 2015).

Setelah dilakukan uji identifikasi flavonoid dan didapati hasil yang positif maka selanjutnya dilakukan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT merupakan suatu metode pemisahan komponen dalam suatu sampel dimana komponen tersebut didistribusikan diantara dua fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah plat KLT yang bersifat polar, sedangkan fase gerak yang digunakan bersifat sangat polar karna mengandung air. Fase diam yang digunakan yaitu plat KLT yang di oven selama 3 menit dengan suhu 45<sup>0</sup>C, hal ini bertujuan untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT sehingga proses elusi dapat berlangsung cepat serta dapat berikatan langsung dengan sampel. Sedangkan fase gerak yang digunakan yaitu n-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4 : 1 : 5 (Fathiyah, 2020), kemudian dimasukkan kedalam chamber dan dijenuhkan. Tujuan penjenuhan adalah untuk memastikan partikel fase gerak terdistribusi merata pada seluruh bagian chamber sehingga proses pergerakan spot diatas fase diam oleh fase gerak berlangsung optimal, dengan kata lain penjenuhan digunakan untuk mengoptimalkan naiknya eluen. Setelah jenuh plat KLT ditotolkan dengan sampel menggunakan pipa kapiler dan dimasukkan kedalam chamber. Kemudian menunggu hingga fase gerak mencapai garis batas atas plat KLT, selanjutnya plat KLT diangkat dan dikeringkan. Setelah kering plat KLT diamati dibawah sinar UV 366 nm. Bercak yang terlihat ditandai dengan pensil. Dari bercak tersebut dapat dihitung nilai Rf dan HRf. Berikut hasil nilai Rf dan HRf yang diperoleh :

**Tabel 4. 5 Hasil Rf dan HRf**

Sampel	Hasil		Standar (Hayati, 2015)
	Rf	HRf	
Maserasi	0,78	78	0,06 - 0,96
Refluks	0,8	80	

Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal sedangkan nilai Hrf diperoleh dari angka Rf dikali 100 yang menghasilkan nilai berangka 1-100. Pada penelitian ini nilai Rf yang dihasilkan dengan metode maserasi yaitu 0,78 dan Hrf 78. Sedangkan dengan metode refluks yaitu 0,8 dan Hrf 80. Perbedaan nilai Rf dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti fase gerak yang digunakan, kejenuhan bejana, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu, keseimbangan dan penotolan sampel (Fathhiyah, 2020).

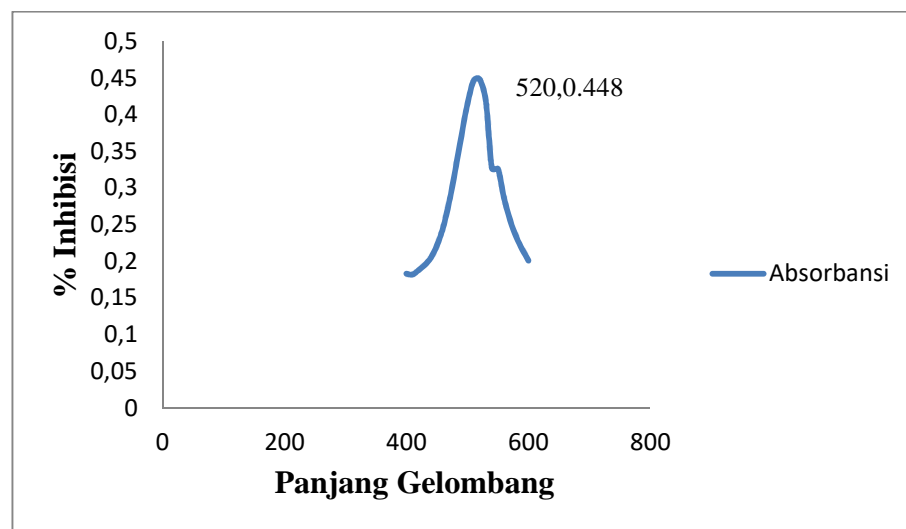
Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan DPPH (*Diphenylpicrylhidrazil*). Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH ini adalah adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH tersebut. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan (Fathurrachman, 2014). Pembacaan absorbansi terhadap perubahan warna dilakukan pada waktu tertentu yang memberikan kesempatan yang cukup untuk berlangsungnya reaksi antara DPPH dan senyawa radikal atau biasa disebut dengan waktu inkubasi. Nilai absorbansi DPPH dapat ditentukan dengan nilai presentasi penghambat radikal DPPH. Dari persen inhibisi dapat ditentukan nilai  $IC_{50}$  (*inhibitory concentration*). Nilai  $IC_{50}$  didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%, semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas perendaman radikal bebas semakin tinggi. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi linier.

Sebelum dilakukan pengukuran absorbansi pada sampel dengan DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum pada daerah panjang gelombang 400-600 nm. Tujuan penentuan panjang gelombang maksimum agar mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi dari larutan baku kuarsetin yang diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis.

**Tabel 4. 6 Panjang Gelombang Maksimum DPPH**

<b>Panjang Gelombang</b>	<b>Absorbansi</b>	
400	0,183	
410	0,182	
420	0,188	
430	0,195	
440	0,205	
450	0,222	
460	0,246	
470	0,281	
480	0,324	
490	0,371	
500	0,415	
510	0,446	
<b>520</b>	<b>0,448</b>	→ $\lambda$ maksimum
530	0,419	
540	0,327	
550	0,326	
560	0,286	
570	0,256	
580	0,233	
590	0,216	
600	0,201	

Berdasarkan hasil panjang gelombang yang didapat adalah 520 nm digunakan untuk pengukuran selanjutnya. Penggunaan panjang gelombang maksimum dikarenakan memiliki kepekaan maksimal terhadap perubahan absorbansi yang paling besar. Panjang gelombang dicari untuk mengetahui seberapa besar energi cahaya tertinggi yang diserap oleh larutan (Amelia, 2011).



**Gambar 4. 1 Kurva Panjang Gelombang Maksimum**

Pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimal yaitu 520 nm dengan konsentrasi DPPH 40 ppm. Antioksidan standar asam askorbat yang digunakan sebagai pembanding dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 40 dan 80 ppm. Setelah didapat absorbansi dari masing-masing konsentrasi kemudian dihitung % inhibisinya dengan rumus dibawah ini :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100 \%$$



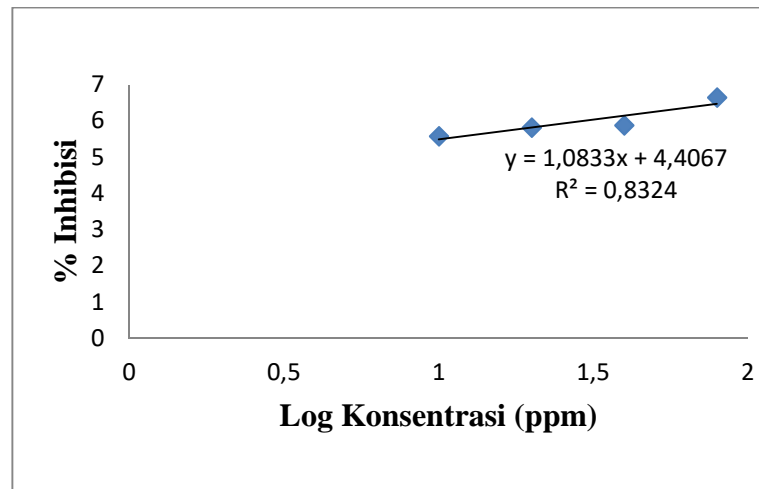
**Tabel 4. 7 Aktivitas Antioksidan Vitamin C**

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi rata-rata	% Inhibisi
Vitamin C	10	0,151	72,08
	20	0,109	79,85
	40	0,101	81,33
	80	0,027	95,00

Tabel diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi vitamin C maka nilai % inhibisi juga semakin meningkat. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Isnindar, 2011). Nilai  $IC_{50}$  ditentukan dengan analisa probit dari data log konsentrasi dengan % inhibisi. Data % inhibisi dimasukkan kedalam tabel probit untuk memperoleh nilai probit, kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi dan probit sehingga diperoleh persamaan linier  $y = ax + b$ . Hasil dari probit inhibisi, persamaan linier dan nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 4. 8 Log Konsentrasi, Probit, % Inhibisi  $IC_{50}$** 

Sampel	Log Konsentrasi	Probit	% Inhibisi	Persamaan Linier	$IC_{50}$
Vitamin C	1	5,58	72,08	$y = 1.0833x + 4.4067$	3,53
	1,3	5,81	79,85		
	1,6	5,88	81,33		
	1,9	6,64	95		



**Gambar 4.2 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Vitamin C**

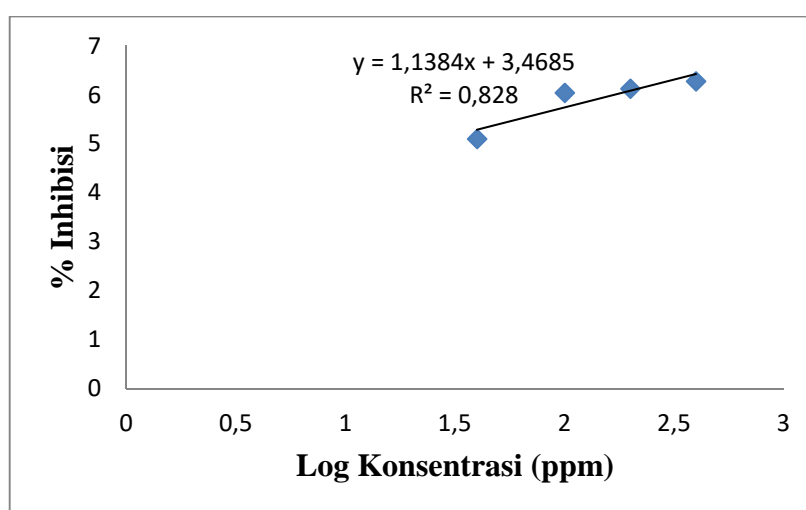
**Tabel 4. 9 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Maserasi Daun Sirsak**

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi rata-rata	% Inhibisi
Ekstrak Maserasi Daun Sirsak	50	0,247	54,34
	100	0,076	85,95
	200	0,067	87,61
	400	0,053	90,20

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maserasi maka nilai % inhibisi juga semakin meningkat. Nilai  $IC_{50}$  ditentukan dengan analisa probit dari data log konsentrasi dengan % inhibisi. Data % inhibisi dimasukkan kedalam tabel probit untuk memperoleh nilai probit, kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi dan probit sehingga memperoleh persamaan linier  $y = ax + b$ . Hasil dari probit inhibisi, persamaan linier dan nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 4. 10 Log Konsentrasi, Probit, % Inhibisi IC<sub>50</sub>**

Sampel	Log Konsentrasi	Probit	%Inhibisi	Persamaan Linier	IC <sub>50</sub>
	1,6	5,10	54,34		
Ekstrak	2	6,04	85,95	$y = 1,1384x + 3,4685$	22,14
Maserasi	2,3	6,13	87,61		
Daun	2,6	6,28	90,20		
Sirsak					

**Gambar 4.3 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Ekstrak Maserasi Daun Sirsak****Tabel 4. 11 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Refluks Daun Sirsak**

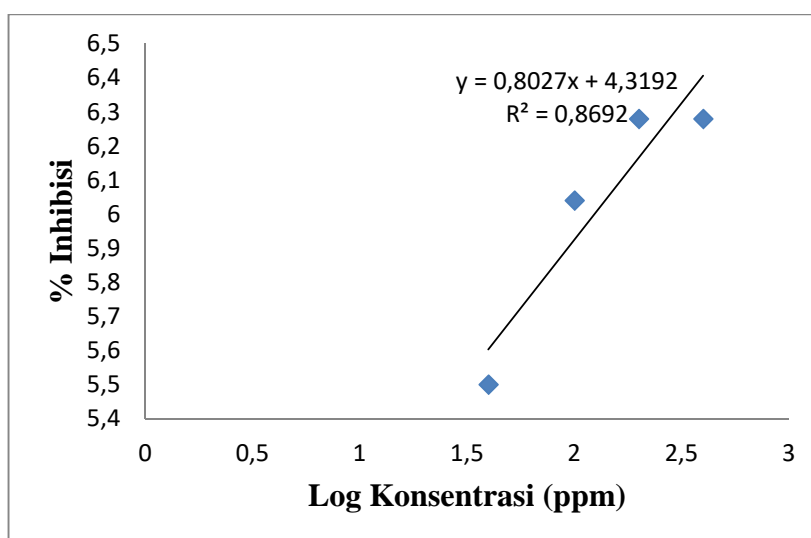
Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi rata-rata	% Inhibisi
	50	0,165	69,50
Ekstrak	100	0,076	85,95
Refluks Daun	200	0,050	90,75
Sirsak	400	0,049	90,94

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak refluks maka nilai % inhibisi juga semakin meningkat. Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan dengan analisa probit dari data log konsentrasi dengan % inhibisi. Data % inhibisi dimasukkan kedalam tabel probit untuk memperoleh nilai probit,

kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi dan probit sehingga memperoleh persamaan linier  $y = ax + b$ . Hasil dari probit inhibisi, persamaan linier dan nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 4. 12 Log Konsentrasi, Probit, % Inhibisi  $IC_{50}$**

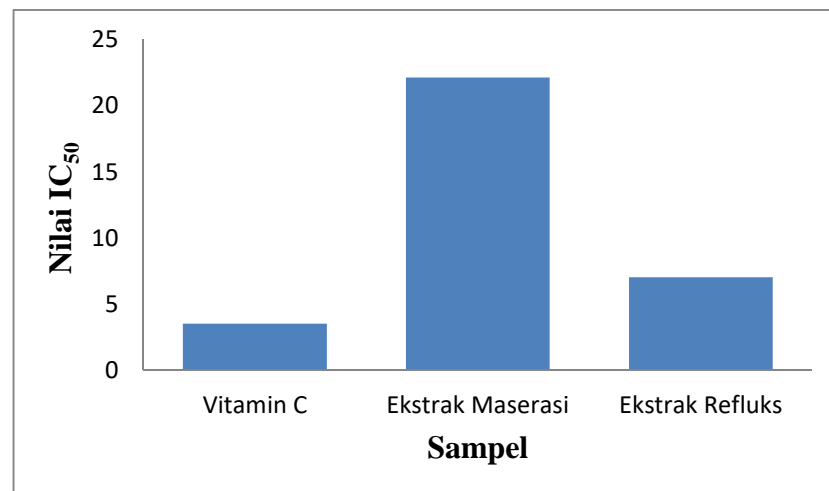
Sampel	Log Konsentrasi	Probit	%Inhibisi	Persamaan Linier	$IC_{50}$
	1,6	5,50	69,50		
Ekstrak	2	6,04	85,95	$y = 0.8027x + 4.3192$	7,04
Refluks	2,3	6,28	90,75		
Daun	2,6	6,28	90,94		
Sirsak					



**Gambar 4.4 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Ekstrak Refluks Daun Sirsak**

Hasil penelitian pada ekstrak maserasi daun sirsak diperoleh nilai  $R^2 = 0.828$  dan pada ekstrak refluks daun sirsak diperoleh nilai  $R^2 = 0.8692$  yang menunjukkan bahwa tingkat akurasi yang cukup pada proses pengukuran absorbansi larutan seri konsentrasi pada ekstrak maserasi dan refluks.

Persamaan regresi linier pada ekstrak maserasi daun sirsak yaitu  $y = 1,1384x + 3,4685$  sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 22,14 ppm. Sedangkan persamaan regresi pada ekstrak refluks daun sirsak yaitu  $y = 0.8027x + 4.3192$  sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 7,04 ppm.



**Gambar 4.5 Grafik Perbandingan Nilai  $IC_{50}$  Vitamin C dengan Ekstrak Maserasi dan Ekstrak Refluks Daun Sirsak**

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh kandungan antioksidan pada ekstrak refluks daun sirsak lebih tinggi daripada ekstrak maserasi. Hal ini terjadi karena efek panas yang dihasilkan dari metode refluks dapat membantu proses difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan, oleh karena itu penarikan senyawa berlangsung secara maksimal (Kiswandono, 2011).

Persamaan regresi linier pada larutan pembanding vitamin C yaitu  $y = 1.0833x + 4.4067$  sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 3,53 ppm lebih tinggi daripada ekstrak maserasi dan ekstrak refluks daun sirsak. Menurut hasil dari penelitian sebelumnya, semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Najihudin, 2017).

**Tabel 4. 13 Tingkatan aktivitas antioksidan (Kurniasih dkk. 2015)**

<b>Aktivitas Antioksidan</b>	<b>Nilai</b>
IC <sub>50</sub> < 50 µg/mL	Sangat Kuat
IC <sub>50</sub> 50 - 100 µg/mL	Kuat
IC <sub>50</sub> 100 - 150 µg/mL	Sedang
IC <sub>50</sub> 151 - 200 µg/mL	Lemah

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> dengan metode maserasi dan metode refluks memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Tidak terdapat perbedaan pada uji aktivitas antioksidan antara metode maserasi dan refluks karena kedua metode tersebut dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat.
2. Besar aktivitas antioksidan pada metode refluks dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 7,04 ppm lebih tinggi daripada metode maserasi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 22,14 ppm.

#### **5.2 Saran**

Saran yang diberikan dari penelitian ini, sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang sama tetapi menggunakan pelarut yang berbeda.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan pembuatan sediaan dari ekstrak daun sirsak dan dilakukan uji aktivitas antioksidannya.
3. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ekstraksi yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, Hanggono Tri. 2015. Ekstraksi Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Dan Daun Mindi (*Melia azedarach*) Untuk Uji Kandungan azadirachtin Menggunakan Spektrofotometer. *Tugas Akhir*. Semarang: Program Studi DIII Teknik Kimia Universitas Diponegoro
- Afrianti, L. H. 2010. 33 Macam Buah-Buahan Untuk Kesehatan. Bandung: Alfabeta.
- Akhyar. 2010. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar Daun Bakau (*Rizophora stylosa* Griff.) dan Buah Terhadap *Vibrio Harveyi*. *Skripsi*. Makassar: Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
- Aminah., Maryam, St., Muzakkir, B., Kalsum, U.f 2016. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Berdasarkan Tempat Tumbuh dengan Metode Perendaman DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 3 No. 1
- Amelia, P. 2011. Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia dari Daun Garcinia Benthami Piere. *Tesis*. Depok: Universitas Indonesia.
- Anastasia, H., Santi, S. R., & Manurung, M. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Pada Kulit Batang Tumbuhan Gayam (*Inocarpus fagiferus* Fosb.). *Jurnal Kimia*, 10(1), 15-22.
- Brewer, M. S. 2011. Natural Antioxidants: Soueces, Compounds, Mechanisms Of Action And Potential Application. *Comprehensive Reviews In Food Sciences And Foot Safety*. 10: 221-247.
- Fathhiyah, 2020. Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan kulit bawang merah (*Allium ascalonicum* L.). *Tugas Akhir*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama.
- Fatyanti, S. N. 2017. Penentuan Kadar Total Fenol dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Sukun (*Artocarpus altilis* L.). *Tugas Akhir*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama.
- Fathurrachman, D. A. 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Dengan Metode Perendaman Radikal Bebas DPPH. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Gafur, M. A., Isa, I & Bialangi, N. 2010. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Jamblang. *Jurnal Fitokimia*, 1(1): 1-11.



- Gandjar, I., & Rohman, A. 2012. *Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Hasanah, Mauizatul., Noprika, A., Noprizon. 2016. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Hasil Ekstraksi Maserasi dan Refluks. *Scientia* Vol.6 No. 2.
- Haijun, Y., Zhang, N., Zeng, Q., Yu, Q., Ke, S And Li X. 2010. HPLC Method For Simultaneous Determination Of Ten Annonaceous Acetogenins After Supercritical Fluid CO<sub>2</sub> Extraction. *International Jurnal Of Biomedical Science*. 6:3, 202-7.
- Hayati, K.E., Ningsih, R dan Latifah. 2015. Antioxidant Activity Of Flavonoid From Rhizoma *Kaempferia galanga* L. Extract. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim. *Journal Of Chemistry*. Vol. 4 No. 2
- Hidayati, P. R. 2017. Perbedaan Aktivitas Antioksidan Pada Perendaman 1 Jam Dan 2 Jam Ekstrak Air Jamur Tiram (*Pleorarius ostreatus*). *Tugas Akhir*. Jombang: Sekolah Tinggi Kesehatan Insan Cendekia Medika.
- Irawan, B. 2010. Peningkatan Mutu Minyak Nilam Dengan Ekstraksi Dan Destilasi Pada Berbagai Komposisi Pelarut. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Isnindar. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diopyroskaki thunb*) dengan Metode DPPH. *Majalah Obat Tradisional*. 16 (3) : 157-164.
- Kiswandono, Agung Abadi. 2011. Skrining Senyawa Kimia Dan Pengaruh Metode Maserasi Dan Refluks Pada Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains*. Vol. 1, No. 2:126-134.
- Kumar, S. 2011. Free Radicals And Antioxidants: Human And Food System. *Adv. In Appl. Sci. Res.*, 2(1):129-135.
- Kurniasih, N., Mimin, K., Nurhasanah., Riska, P. S & Riza, W. 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn), Daun Binahong (*Anredera cordifolia*(Ten) Steenis), Dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. *Jurnal Sains*. Volume 9 No. 1.
- Kedare, S. B. And Singh, R. P., 2011. Genesis And Development Of DPPH Method Of Antioxidants Assay, *Journal Of Food, Science And Technology*, 48 (4), 412-422.
- Latifah, 2015. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga* L. dengan Metode

- DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim.
- Lutfiasari, M. F. 2016. Analisa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Tugas Akhir*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama.
- Mardiana, L., 2013. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Marjoni, A. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta : CV. Trans Info Media.
- Maulida, F. L. 2018. Analisis Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Tugas Akhir*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama
- Mu'awwanah, A dan Maria, U. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica pubescens*) dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dan Flavonoidnya. *Prosiding*. Fakultas Farmasi. Semarang: Universitas Wahid Hasyim.
- Muharni., Elfita., Amanda. 2013. Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Morelloflavon Dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (*Garcinia xanthochymus*). *Prosiding*. Semirata FMIPA Univesitas Lampung.
- Mustikaningrum, M. 2015. Aplikasi Metode Spektrofotometri Visibel Genesys-20 Untuk Mengukur Kadar Curcuminoid Pada Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). *Tugas Akhir*. Semarang: Program Studi Diploma III Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Najihudin, A., Chaerunnisa, A., Subarnas. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Trengguli (*Cassia Fistula* L.) dengan Metode DPPH. Sumedang. IJPST Vol. 4 No. 2.
- Neldawati, R & Gusnadi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi Dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. Padang: Pillar Physics, Vol 2 Oktober 2013.
- Putri, H. 2016. Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Teh Hijau Dan Ekstrak Daun Teh Hitam (*Camelia sinensis*) Dengan Metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*). *Tugas Akhir*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama.
- Rahayu Artini, Ni Putu. 2012. Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Sebagai Antioksidan Pada Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Wistar. *Skripsi*. Denpasar: Universitas Udayana.

- Rahmawati, F. 2015. Optimasi Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Pada Pemisahan Senyawa Alkaloid Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L. R. Br). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Riza, M. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia*. Bukit Tinggi: Trans Info Media.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidan Dan Peranan Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlian*. Vol 9 No 2.
- Rustamsyah. 2015. Aktivitas Antioksidan Seduhan Sepuluh Jenis Mutu Teh Hitam (*Camelia sinensis*(L.) O Kuntze). *Penelitian Teh Kina*, 95-100.
- Safira, Alya. 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Singkil (*Premna corymbosa* Rottl. et Willd) Dengan DPPH Secara Spektrofotometri. *Tugas Akhir*. Samarinda: Akademi Farmasi Samarinda
- Sayuti. K. Yenrina. R. 2015. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Sinurat, I. V. 2011. Identifikasi atau Determinasi Tumbuhan. Cibinong: Pusat Penelitian Biologi.
- Sugiyono. 2010. *Metode Penelitian Pendidikan Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif Dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Surbakti, C. I & Nadiya. 2018. Uji Mutu Ekstrak Daun Sirsak (*Anonna muricata* Linn) yang Diekstraksi Secara Maserasi Dengan Pelarut Etanol 70%. *Jurnal Farmasi*. Vol.1 No.1.
- Sektiaji, Defiani. 2019. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*(Wight) Walp.). *Tugas Akhir*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama.
- Senja, R. N., Issusilaningtya, W., Nugroho, A. K., Setyowati, E. P. 2014. Perbandingan Metode Ekstraksi Dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L. var. *capitata f. rubra*). *Traditional Medicine Journal*. 19(1), 43-48.
- Taek, Yoanita. M. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*). *Tugas Akhir*. Kupang: Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
- Utami, R. D., Yuliawati, K. M., dan Safnir, L. 2015. Pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan daun sukun (*Arthocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg). *Prosiding*. Penelitian Spesia Unisba. 280-286.
- Wahyuni, Wulan Tri., Latifah K. D., Pitria. A. R. 2018. Analisis Kadar Flavonoid Dan Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*), Rumpun

- Mutiara (*Oldenlandia corymbosa*), Dan Sirsak (*Annona muricata*) Dengan Teknik Spektrometri. Analit: Analytical And Environmental Chemistry Vo. 3 No. 1.
- Widyaningrum, Herlina. 2012. *Sirsak Si Buah Ajaib 10.000x Lebih Hebat Dari Kemoterapi*. Yogyakarta: Medpress.
- Winarsi, Hery. 2011. *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wulandari, A. 2017. Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Polarisasi Kromatografi Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Tugas Akhir*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama.
- Wulandari, E., Sutanto, H. T. 2013. Model Regresi Probit Untuk Mengetahui Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Jumlah Penderita Diare Di Jawa Timur. *Jurnal. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Surabaya*.
- Yuhernita & Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*, 15 (1), 48-52.
- Zuhud, E. 2011. *Bukti Kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker*. Yunita Indah. Cet-1. Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Zuraida, Sulistiyani, D. S & Irma H,S. 2017. Fenol, Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). *Jurnal Hasil Hutan*. 35(3):212-213.



### Lampiran 1 Presentase Bobot Kering terhadap Bobot Basah

#### Presentase bobot kering terhadap bobot basah

Daun sirsak basah = 3000 gram

Daun sirsak kering = 204.38 gram

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan} &= \frac{\text{berat kering}}{\text{berat basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{204.38 \text{ gram}}{3000 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 6.81 \%\end{aligned}$$

### Lampiran 2 Perhitungan Rendemen Ekstrak Maserasi Daun Sirsak

$$\text{Beaker glass kosong} = 170,47 \text{ gram} \quad (\text{a})$$

$$\text{Beaker glass + isi} = 270,42 \text{ gram} \quad (\text{b})$$

$$\text{Beaker glass + sisa} = 170,56 \text{ gram} \quad (\text{c})$$

$$\begin{aligned} \text{Berat sampel} &= (\text{b}) - (\text{c}) \\ &= 270,42 - 170,56 \\ &= 99,86 \text{ gram} \quad (\text{x}) \end{aligned}$$

$$\text{Berat cawan kosong} = 82,48 \text{ gram} \quad (\text{d})$$

$$\text{Berat cawan + isi} = 86,50 \text{ gram} \quad (\text{e})$$

$$\text{Berat cawan + sisa} = 82,64 \text{ gram} \quad (\text{f})$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= (\text{e}) - (\text{f}) \\ &= 86,50 - 82,64 \\ &= 3,86 \text{ gram} \quad (\text{y}) \end{aligned}$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosentase rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\ &= \frac{3,86}{99,86} \times 100\% \\ &= 3,86 \% \end{aligned}$$

### Lampiran 3 Perhitungan Rendeman Ekstrak Refluks Daun Sirsak

$$\text{Beaker glass kosong} = 170,49 \text{ gram} \quad (\text{a})$$

$$\text{Beaker glass + isi} = 270,43 \text{ gram} \quad (\text{b})$$

$$\text{Beaker glass + sisa} = 170,53 \text{ gram} \quad (\text{c})$$

$$\begin{aligned} \text{Berat sampel} &= (\text{b}) - (\text{c}) \\ &= 270,43 - 170,53 \\ &= 99,9 \text{ gram} \quad (\text{x}) \end{aligned}$$

$$\text{Berat cawan kosong} = 80,86 \text{ gram} \quad (\text{d})$$

$$\text{Berat cawan uap + isi} = 84,13 \text{ gram} \quad (\text{e})$$

$$\text{Berat cawan uap + sisa} = 80,98 \text{ gram} \quad (\text{f})$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= (\text{e}) - (\text{f}) \\ &= 84,13 - 80,98 \\ &= 3,15 \text{ gram} \quad (\text{y}) \end{aligned}$$

$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$
---

$$\begin{aligned} \text{Prosentase rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\ &= \frac{3,15}{99,9} \times 100\% \\ &= 3,15 \% \end{aligned}$$



## Lampiran 4 Perhitungan Fase Gerak Pada Kromatografi Lapis Tipis

### 1. Perhitungan fase gerak

Fase gerak yang digunakan yaitu n-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan (4 : 1 : 5) dibuat sebanyak 10 mL

a. N – butanol

$$\frac{4}{10} \times 10 \text{ mL} = 4 \text{ mL}$$

b. Asam asetat

$$\frac{1}{10} \times 10 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$

c. Air

$$\frac{5}{10} \times 10 \text{ mL} = 5 \text{ mL}$$

### 2. Perhitungan nilai Rf

Panjang gelombang 366 nm

a. Maserasi

$$\begin{aligned} R_f &= \frac{\text{jarak yang ditempuh sampel}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \\ &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,7875 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} hR_f &= \frac{\text{jarak yang ditempuh sampel}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \times 100 \\ &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} \times 100 = 78,75 \end{aligned}$$

b. Refluks

$$\begin{aligned} R_f &= \frac{\text{jarak yang ditempuh sampel}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \\ &= \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} hR_f &= \frac{\text{jarak yang ditempuh sampel}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \times 100 \\ &= \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} \times 100 = 80 \end{aligned}$$

### Lampiran 5 Pembuatan larutan seri vitamin C

Larutan induk vitamin C 100 ppm  $\longrightarrow$  10mg/100 mL

Dibuat konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm dan 80 ppm

1. Konsentrasi 10 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 10$$

$$V_1 = \frac{100}{100} = 1 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

2. Konsentrasi 20 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 20$$

$$V_1 = \frac{200}{100} = 2 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

3. Konsentrasi 40 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 40$$

$$V_1 = \frac{400}{100} = 4 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

4. Konsentrasi 80 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 80$$

$$V_1 = \frac{800}{100} = 8 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

### Lampiran 6 Pembuatan Larutan Seri Ekstrak Daun Sirsak

Larutan induk 2000 ppm  $\longrightarrow$  100 mg/50 mL

Dibuat konsentrasi larutan seri 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm dan 400 ppm.

1. Konsentrasi 50 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2000 = 10 \times 50$$

$$V_1 = \frac{500}{2000} = 0,25 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

2. Konsentrasi 100 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2000 = 10 \times 100$$

$$V_1 = \frac{1000}{2000} = 0,5 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

3. Konsentrasi 200 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2000 = 10 \times 200$$

$$V_1 = \frac{2000}{2000} = 1 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

4. Konsentrasi 400 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2000 = 10 \times 400$$

$$V_1 = \frac{4000}{2000} = 2 \text{ mL}/10 \text{ mL}$$

## Lampiran 7 Data Absorbansi Ekstrak Daun Sirsak

Larutan Blanko ( Metanol)

Replikasi	Data Absorbansi
1	0,541
2	0,541
3	0,541
Rata-rata	0,541

1. Vitamin C

Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata
	1	2	3	
10 ppm	0,154	0,152	0,148	0,151
20 ppm	0,111	0,109	0,107	0,109
40 ppm	0,101	0,101	0,101	0,101
80 ppm	0,027	0,027	0,027	0,027

Perhitungan % Inhibisi pada Vitamin C

$$\begin{aligned}
 10 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,541 - 0,151}{0,541} \times 100 \% \\
 &= 72,08 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 20 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,541 - 0,109}{0,541} \times 100 \% \\
 &= 79,85 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 40 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,541 - 0,101}{0,541} \times 100 \% \\
 &= 81,33 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,541 - 0,027}{0,541} \times 100 \% \\
 &= 95 \%
 \end{aligned}$$

**Nilai IC<sub>50</sub> Vitamin C**

$$y = 1,0833x + 4,4067$$

$$5 = 1,0833x + 4,4067$$

$$0,5933 = 1,0833x$$

$$x = \frac{0,5933}{1,0833} = 0,5478$$

$$\text{Antilog } 0,5478 = 3,5302$$

**2. Metode ekstraksi maserasi**

Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata
	1	2	3	
50 ppm	0,249	0,247	0,246	0,247
100 ppm	0,077	0,077	0,076	0,076
200 ppm	0,064	0,069	0,068	0,067
400 ppm	0,053	0,054	0,053	0,053

Perhitungan % Inhibisi pada ekstrak maserasi daun sirsak

$$\begin{aligned} 50 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,247}{0,541} \times 100 \% \\ &= 54,34 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,076}{0,541} \times 100 \% \\ &= 85,95 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 200 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,067}{0,541} \times 100 \% \\ &= 87,61 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 400 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,053}{0,541} \times 100 \% \\ &= 90,20 \% \end{aligned}$$

**Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Maserasi Daun Sirsak**

$$y = 1,1384x + 3,4685$$

$$5 = 1,1384x + 3,4685$$

$$1,5315 = 1,1384x$$

$$x = \frac{1,5315}{1,1384} = 1,3453$$

$$\text{Antilog } 1,3453 = 22,14$$

**3. Refluks**

Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata
	1	2	3	
50 ppm	0,166	0,165	0,164	0,165
100 ppm	0,077	0,076	0,076	0,076
200 ppm	0,048	0,051	0,051	0,050
400 ppm	0,046	0,050	0,051	0,049

Perhitungan % Inhibisi pada ekstrak refluks daun sirsak

$$\begin{aligned} 50 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,165}{0,541} \times 100 \% \\ &= 69,50 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,076}{0,541} \times 100 \% \\ &= 85,95 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 200 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,050}{0,541} \times 100 \% \\ &= 90,75 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 400 \text{ ppm} &= \frac{(\text{rata-rata larutan blanko}) - (\text{rata-rata larutan sampel})}{\text{rata-rata larutan blanko}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,541 - 0,049}{0,541} \times 100 \% \\ &= 90,94 \% \end{aligned}$$

**Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Refluks Daun Sirsak**

$$y = 0,8027x + 4,3192$$

$$5 = 0,8027x + 4,3192$$

$$0,6808 = 0,8027x$$

$$x = \frac{0,6808}{0,8027} = 0,8481$$

$$\text{Antilog } 0,8481 = 7,04$$

### Lampiran 8 Tabel Probit

%	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,06	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,76	7,88	8,09




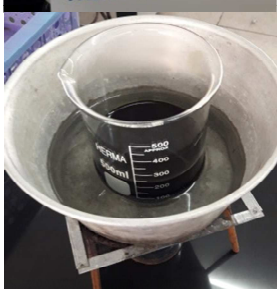

(Sektiaji, 2018)



**Lampiran 9 Pembuatan Serbuk Daun Sirsak****Pembuatan Serbuk Daun Sirsak**

<b>No.</b>	<b>Gambar</b>	<b>Keterangan</b>
1.		Proses Pencucian Daun Sirsak
2.		Proses Perajangan
3.		Proses Pengeringan
4.		Simplisia diblender dan diayak
5.		Serbuk Ditimbang

**Lampiran 10 Proses Ekstraksi Daun Sirsak****Proses Ekstraksi Daun Sirsak**

No	Gambar	Keterangan
1.		Proses Penimbangan
2.		Proses Maserasi Daun Sirsak
3.		Proses Refluks Daun Sirsak
4.		Proses Penguapan
5.		Ekstrak Kental Maserasi Daun Sirsak

---



6.



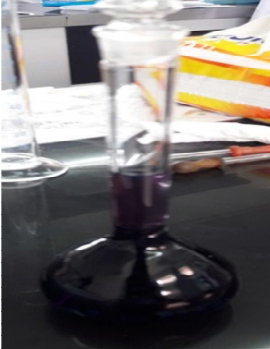

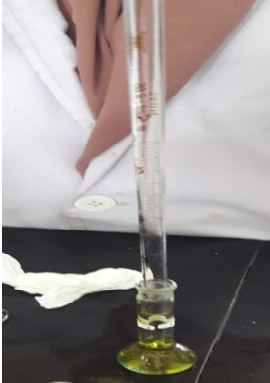

Ekstrak Kental Refluks Daun Sirsak

---




**Lampiran 11 Proses KLT**

<b>No.</b>	<b>Gambar</b>	<b>Keterangan</b>
1.		Proses Melakukan KLT
2.		Bercak dari metode maserasi dan refluks dibawah sinar UV 366 nm

**Lampiran 12 Proses Pembuatan Larutan DPPH dan Larutan Uji**

<b>No.</b>	<b>Gambar</b>	<b>Keterangan</b>
1.		Proses Pembuatan Larutan DPPH
2.		Proses Pembuatan Larutan Uji Vitamin C
3.		Proses Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Maserasi dan Refluks Daun Sirsak
4.		Larutan Uji Vitamin C

**Lampiran 13 Proses Mencari Data Absorbansi dengan Spektrofotometri UV-Vis**

<b>No.</b>	<b>Gambar</b>	<b>Keterangan</b>
1.		Mencari Panjang Gelombang
2.		Mencari Absorbansi dari Ekstrak Maserasi Daun Sirsak
3.		Mencari Absorbansi dari Ekstrak Refluks Daun Sirsak



Yayasan Pendidikan Harapan Bersama  
**PoliTeknik Harapan Bersama**  
**PROGRAM STUDI D III FARMASI**

Kampus I : Jl. Mataram No. 9 Tegal 52142 Telp. 0283-352000 Fax. 0283-353353  
 Website : www.poltektegal.ac.id Email : farmasi@poltektegal.ac.id

No : 028.06/FAR.PHB/III/2021  
 Hal : Keterangan Praktek Laboratorium

**SURAT KETERANGAN**

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Syahra Amelia  
 NIM : 18080139  
 Judul KTI : Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap  
 Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*  
 L.)

Benar – benar telah melakukan penelitian di Laboratorium DIII Farmasi PoliTeknik  
 Harapan Bersama Tegal.

Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 2 Maret 2021  
 Mengetahui,

Ka. Prodi DIII Farmasi

apt. Sari Prabandari, S.Farm.,M.M  
 NIPY. 08.015.223

Ka. Laboratorium

apt. Meliyana Perwita S, M.Farm  
 NIPY.09.016.312



