

**PERBANDINGAN UJI METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BUAH, KULIT, DAN
DAUN MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Correa)**



TUGAS AKHIR

Oleh:

DWI RINDI ATIKA

18080131

PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI

POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA

2021

**PERBANDINGAN UJI METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BUAH, KULIT, DAN
DAUN MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Correa)**



TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Dalam Mencapai
Gelar Derajat Ahli Madya

Oleh :

DWI RINDI ATIKA

18080131

PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI

POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA

2021

HALAMAN PERSETUJUAN

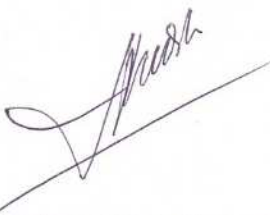
**PERBANDINGAN UJI METABOLIT SEKUNDER DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BUAH, KULIT,
DAN DAUN MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Correa)**

TUGAS AKHIR

Oleh :
DWI RINDI ATIKA
18080131

DIPERIKSA DAN DISETUJUI OLEH :

PEMBIMBING I


ALDI BUDI R, S.Si., M.T
NIDN.0602038701

PEMBIMBING II


JOKO SANTOSO, M.Farm
NIDN.0623109201

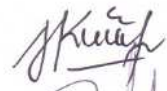


HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir ini diajukan oleh :

NAMA : DWI RINDI ATIKA
NIM : 18080131
Jurusan / Program Studi : Diploma III FARMASI
Judul Tugas Akhir : PERBANDINGAN UJI METABOLIT SEKUNDER
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA
EKSTRAK BUAH, KULIT, DAN
DAUN MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Correa)

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

TIM PENGUJI

Ketua Sidang : Kusnadi, M.Pd ()
Penguji 1 : Joko Santoso, M.Farm ()
Penguji 2 : Apt. Rizki Febriyanti, M.Farm ()

Tegal, 26 April 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	DWI RINDI ATIKA
NIM	18080131
Tanda Tangan	
Tanggal	26 April 2021

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Politeknik Harapan Bersama, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : DWI RINDI ATIKA
NIM : 18080131
Jurusan / Program Studi : Diploma III Farmasi
Jenis Karya : Tugas Akhir

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, meyetujui untuk memberikan kepada Politeknik Harapan Bersama **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas tugas akhir saya yang berjudul :

PERBANDINGAN UJI METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BUAH, KULIT, DAN DAUN MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Correa). Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Politeknik Harapan Bersama 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 : 26 April 2021

Yang menyatakan



(Dwi Rindi Atika)

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”

(QS. Al-Insyirah:6-8).

“Tidak ada kesuksesan melainkan dengan pertolongan Allah SWT”

(Q.S. Huud:88).

“Kesuksesan bukan tentang seberapa banyak uang yang kamu hasilkan, tapi seberapa besar kamu bisa membawa perubahan untuk hidup orang lain”

“Akan ada solusi untuk setiap masalah. Hidup terlalu singkat jika hanya untuk mengeluh. Berusaha, percaya diri, dan berdoa”

“Bukan ambisi yang membawa dirimu pada kesuksesan tapi kesungguhanmu meraih kesuksesan itu dengan keikhlasan”

“Tentukan tujuanmu dan segera langkahkan kakimu untuk melangkah. Fokuskan langkahmu dengan mengingat apa tujuanmu itu. Jangan berhenti hanya karena batu kerikil menghalangi langkahmu. Ingat!!!langkah awalmu yang menentukan tujuan akhirmu. Tidak ada kesuksesan yang didapat dengan mudah, karena kesuksesan dapat diraih hanya untuk mereka yang mempunyai tekad dan semangat yang tinggi”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahrabbi'l'amin
(Segala Puji Bagi Allah, Tuhan Seluruh Alam)

Dengan segala doa-doa dan motivasi dari orangtuaku, orang-orang disekelilingku yang sangat aku cintai, hingga saat ini aku masih bisa bertahan di titik ini
Titik dimana sepercik keberhasilan yang Engkau hadiahkan
untukku Ya Rabb

Untuk kedua Orang Tuaku dan kakakku tercinta, yang tiada hentinya selama ini memberiku semangat, doa, dorongan, nasehat, dan kasih sayang serta pengorbanan yang tidak akan pernah aku lupakan hingga menua umurku, yang selalu menguatkan aku dikala aku terjatuh, dikala rintangan menghampiriku, engkau lah pahlawanku yang tidak akan tergantikan oleh siapapun,..
Bapak,..Mama,..terimalah bukti kecil ini sebagai kado keseriusanku untuk membalas semua pengorbananmu. Maafkan aku yang masih saja menyusahkanmu,.....

Bapak Aldi Budi Riyanta, S.,Si.,MT dan Bapak Joko Santoso, M.Farm selaku pembimbing I dan pembimbing II, terimakasih telah membimbing saya dengan sabar dan selalu memberikan motivasi serta nasehat kepada saya.

Teman dan sahabat-sahabatku terimakasih atas segala bantuan dan supportnya. Kalian selalu menghiburku dikala aku terjatuh dan menemaniku hingga aku bangkit kembali. Sukses terus untuk kalian semuwaaaa,..

Terakhir, kupersembahkan teruntuk seseorang yang masih menjadi risalah tersembunyi disepertiga malam yang ditakdirkan Tuhan...:)

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT. Yang telah memberikan nikmat serta hidayah-Nya terutama nikmat kesempatan dan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“PERBANDINGAN UJI METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BUAH, KULIT, DAN DAUN MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Correa)”**. Tujuan penulisan tugas akhir ini adalah untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai Gelar Ahli Madya Program Studi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama.

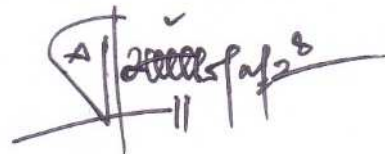
Dalam penyusunan Tugas Akhir ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, pengarahan bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Bapak Nizar Suhendra, Amd, S.E, M.P.P, selaku Direktur Politeknik Harapan Bersama.
2. Ibu apt. Sari Prabandari, S.Farm., M.M, selaku Ketua Program Studi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
3. Bapak Aldi Budi Riyanta., S.Si., M.T., selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan ilmu dan bimbingan dalam penyempurnaan Tugas Akhir ini.

4. Bapak Joko Santoso, M.Farm, selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan banyak ilmu dan bimbingan dalam penyempurnaan Tugas Akhir ini.
5. Seluruh staff dosen Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama .
6. Bapak dan Ibu serta keluargaku yang selama ini mendo'akanku serta selalu memotivasi agar terus berjuang dan pantang menyerah. Terimakasih atas segalanya.
7. Sahabat dan teman-teman angkatan 2021 Politeknik Harapan Bersama, terimakasih atas bantuan, semangat, kebersamaan, dan kerjasamanya sehingga tercipta cerita yang terangkai dengan indah dan tak terlupakan.
8. Serta kepada semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu saya dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat-Nya atas kebaikan yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penyusunan Tugas Akhir ini, maka Penulis sangat berharap kritik dan saran pembaca untuk kesempurnaan Tugas Akhir ini. Namun, demikian semoga Tugas Akhir ini berguna bagi semua pihak yang membacanya.

Tegal, 26 April 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dwi Rindi Atika', with a stylized flourish extending to the right.

Dwi Rindi Atika

INTISARI

Atika, Dwi Rindi., Riyanta, Aldi Budi., Santoso, Joko., 2021. Perbandingan Uji Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah, Kulit, Dan Daun Maja (*Aegle marmelos* (L.) Correa).

Beberapa tanaman di Indonesia mengandung senyawa metabolit sekunder dan antioksidan, salah satunya adalah Tanaman Maja. Bagian tanaman maja yang digunakan dalam penelitian ini meliputi buah, kulit, dan daun. Tujuan Penelitian ini untuk membandingkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah, kulit, dan daun maja. Dan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada sampel tersebut.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan tanaman maja sebagai sampel yang di ambil secara *random sampling* dari Kelurahan Slerok, Tegal, Jawa Tengah, Indonesia. Uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu uji metabolit sekunder, uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis), dan uji aktivitas antioksidan dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Hasil penelitian ekstrak rendemen buah, kulit, dan daun maja berturut-turut diperoleh 48,5%, 90,4%, dan 32,8%. Dari ekstrak buah, kulit, dan daun maja memiliki kesamaan kandungan metabolit sekunder berupa tanin (FeCl_3 5%), alkaloid (Bouchardat), dan vitamin C. Hasil uji KLT menunjukkan nilai Rf sebesar 0,30, 0,27, dan 0,93. Sedangkan IC_{50} yang diperoleh berturut-turut yaitu 2897,3434 ppm, 7321,49 ppm, dan 37,0937 ppm. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat kandungan metabolit sekunder pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja. Aktivitas antioksidan yang paling kuat terdapat pada ekstrak daun maja.

Kata kunci : *Tanaman Maja, Metabolit Sekunder, Aktivitas Antioksidan*

ABSTRACT

Atika, Dwi Rindi., Riyanta, Aldi Budi., Santoso, Joko., 2021. The Comparison of Secondary Metabolites and Antioxidant Activities in Mojo Fruit, Skin and Leaf (*Aegle marmelos* (L.) Correa) Extracts.

Several plants in Indonesia contain secondary metabolites and antioxidants, one of which is the Mojo Plant. Parts of mojo plants used in this study include fruit, skin, and leaves. The aim of this study was to compare secondary metabolites found in the fruit, skin and leaves of mojo plants, and to determine antioxidant from the sample.

The experiment involved mojo plant taken from one village in Slerok, Tegal, Central Java, Indonesia. Some tests (Secondary Metabolites, Thin Layer Chromatography, and Antioxidant Activities (IC₅₀) using Spectrophotometrie UV-Vis) were administered to get further results.

The test of secondary metabolites indicated that yield extracts of mojo fruit, skin and leaves were as much as 48,5%, 90,4%, and 32,8%. Respectively in form of tanin (FeCl₃ 5%), alkaloids (Bouchardat), and Vit. C. Based on Thin Layer Chromatography test, the extract showed value of R_f of 0,30, 0,27, and 0,93. Meanwhile, the test of IC₅₀ obtained 2897,34 ppm, 7321,49 ppm, and 37,0937 ppm. All the results can be concluded that there was secondary metabolites in mojo fruit, skin, and leaf extracts. In addition, the most antioxidant activity found only in mojo leaves extracts.

Keywords: *Mojo Plants, Secondary Metabolites, Antioxidant Activity*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
HALAMAN MOTTO	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
PRAKATA.....	ix
INTISARI.....	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xix
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1Latar Belakang	1
1.2Rumusan Masalah	3
1.3Batasan Masalah.....	3
1.4Tujuan Penelitian.....	4
1.5Manfaat Penelitian.....	4
1.6Keaslian Penelitian	5
BAB II.....	7
TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	7
2.1 Tinjauan Pustaka	7
2.1.1 Klasifikasi Buah Maja	7
2.1.2Morfologi Buah Maja	8
2.1.3Morfologi Kulit Maja	8
2.1.4Morfologi Daun Maja.....	9

2.1.5 Kandungan Buah, Kulit, dan Daun Maja.....	9
2.1.6Manfaat Buah, Kulit, dan Daun Maja	11
2.1.7Ekstraksi	11
2.1.8Maserasi.....	12
2.1.9Definisi Simplisia	13
2.1.10Kromatografi Lapis Tipis	14
2.1.11 Flavonoid.....	16
2.1.12Antioksidan.....	16
2.1.13Mekanisme Kerja Antioksidan	17
2.1.14 Metode Uji Antioksidan dengan Metode DPPH.....	19
2.1.15 Spektrofotometri UV-Vis	20
2.2 Hipotesis	23
BAB III	24
METODE PENELITIAN.....	24
3.1Objek Penelitian	24
3.2Sampel dan Teknik Sampling.....	24
3.3 Variabel Penelitian	25
3.3.1 Variabel Bebas.....	25
3.3.2 Variabel Terikat	25
3.3.3 Variabel Terkendali	25
3.4Teknik Pengumpulan Data	25
3.4.1 Cara Pengumpulan Data	25
3.4.2 Alat dan Bahan	26
3.5 Cara Kerja.....	26
3.5.1 Pengambilan Sampel	26
3.5.2 Pembuatan Simplisia	27
3.5.3 Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik	28
3.5.4Ekstraksi buah, kulit, dan daun maja dengan metode maserasi.....	30
3.5.5Uji Metabolit Sekunder.....	31
3.5.6Uji Kromatografi Lapis Tipis	39
3.5.7Pembuatan Larutan DPPH.....	42
3.5.8 Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH	42
3.5.9Pembuatan Larutan Uji Sampel Hasil Ekstraksi.....	43

3.5.10 Pembuatan Larutan Induk Vitamin C (100 ppm) Sebagai Kontrol Positif.....	44
3.5.11 Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C (10,20,40,80 ppm)	44
3.5.12 Pembuatan Larutan Induk 2000 ppm.....	45
3.5.13 Penentuan <i>operating time</i> larutan DPPH 0,1 mM	45
3.5.14 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	46
3.5.15 Analisa Data Aktivitas Antioksidan	46
3.5.16 Analisa Hasil.....	48
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Persiapan Sampel	49
4.2 Identifikasi Sampel.....	50
4.2.1 Uji Makroskopik.....	50
4.2.2 Identifikasi Mikroskopik	51
4.3 Ekstraksi.....	55
4.4 Uji Metabolit Sekunder.....	57
4.5 Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis	74
4.6 Uji Aktivitas Antioksidan	76
4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang	77
4.7 Penentuan Operating Time	80
4.8 Penentuan Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	81
4.9 Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel.....	82
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	87
5.1 Kesimpulan	87
5.2 Saran	87
DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Buah Maja (<i>Aegle marmelos</i> L.).....	8
Gambar 2. 2 Kulit Buah Maja (<i>Aegle marmelos</i> L.).....	9
Gambar 2. 3 Daun Maja (<i>Aegle marmelos</i> L.).....	9
Gambar 2. 4 Reaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan Antioksidan	20
Gambar 3. 1 Pengambilan Sampel	27
Gambar 3. 2 Pembuatan Simplisia.....	28
Gambar 3. 3 Identifikasi Makroskopis.....	29
Gambar 3. 4 Identifikasi Mikroskopis	29
Gambar 3.5 Ekstraksi Buah, Kulit, dan Daun Maja dengan Metode Maserasi.....	31
Gambar 3. 6 Uji Senyawa Flavonoid	32
Gambar 3. 7 Uji Senyawa Saponin	33
Gambar 3. 8 Uji Senyawa Alkaloid	34
Gambar 3. 9 Uji Senyawa Tanin.....	34
Gambar 3. 10 Uji Minyak Atsiri	35
Gambar 3. 11 Uji Protein	36
Gambar 3. 12 Uji Karbohidrat	37
Gambar 3. 13 Uji Gula Pereduksi	37
Gambar 3. 14 Uji Vitamin A.....	38
Gambar 3. 15 Uji Vitamin C.....	39
Gambar 3. 16 Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	41
Gambar 3. 17 Pembuatan Larutan DPPH	42
Gambar 3. 18 Penentuan Panjang Gelombang.....	43
Gambar 3. 19 Pembuatan Larutan Uji Sampel	43
Gambar 3. 20 Pembuatan Larutan Induk Vitamin C.....	44
Gambar 3.21.Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C	45
Gambar 3. 22 Penentuan operating time Larutan DPPH 0,1 Mm.....	45
Gambar 3. 23 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	46
Gambar 4.1 Uji Kromatografi Lapis Tipis Pada Sinar UV 254 nm.....	75
Gambar 4.2 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal	79
Gambar 4.3 Pengukuran Operating Time	80

Gambar 4.4 Hubungan Antara Log Konsentrasi Dengan Probit % Inhibisi Vitamin C.....	82
Gambar 4.5 Hubungan Antara Log Konsentrasi Dengan Probit %Inhibisi Ekstrak Buah, Kulit dan Daun Maja	84

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian	5
Tabel 4.1 Hasil Makroskopis Pada Serbuk Buah, Kulit, Daun Maja.....	50
Tabel 4.2 Hasil Uji Mikroskopis Pada Serbuk Buah Maja	51
Tabel 4.3 Hasil Uji Mikroskopis Pada Simplisia Kulit Maja	53
Tabel 4.4 Hasil Uji Mikroskopis Pada Simplisia Daun Maja	54
Tabel 4.5 Hasil Rendemen Ekstrak Buah, Kulit, dan Daun Maja.....	57
Tabel 4.6 Hasil Kandungan Flavonoid.....	58
Tabel 4.7 Hasil Kandungan Saponin.....	59
Tabel 4.8 Hasil Kandungan Alkaloid.....	61
Tabel 4.9 Hasil Kandungan Tanin	63
Tabel 4.10 Hasil Kandungan Minyak Atsiri	65
Tabel 4.11 Hasil Kandungan Protein	66
Tabel 4.12 Hasil Kandungan Karbohidrat	67
Tabel 4.13 Hasil Kandungan Gula Pereduksi	69
Tabel 4.14 Hasil Kandungan Vitamin A.....	70
Tabel 4.15 Hasil Kandungan Vitamin C	72
Tabel 4.16 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	75
Tabel 4.17 Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	77
Tabel 4.18 Penentuan Operating Time.....	80
Tabel 4.19 Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	81
Tabel 4.20 Aktivitas Antioksidan Vitamin C Dalam Bentuk Probit.....	82
Tabel 4.21 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah, Kulit Dan Daun Maja.....	83
Tabel 4.22 Antioksidan Ekstrak Buah, Kulit, Dan Daun Maja.....	84
Tabel 4.23 Tingkat Kekuatan Antioksidan Dengan Metode DPPH	86

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara yang kaya keanekaragaman hayati, berbagai tanaman dapat tumbuh dengan subur ini dikarenakan keadaan geografis Indonesia, yang beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi sepanjang tahun. Keanekaragaman hayati tersebut banyak digunakan sebagai sumber untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder. Makhluk hidup dapat menghasilkan bahan organik sekunder (metabolit sekunder) atau bahan alami melalui reaksi sekunder dari bahan organik primer (karbohidrat, lemak, protein). Bahan organik sekunder (metabolit sekunder) ini umumnya merupakan hasil akhir dari suatu proses metabolisme. Bahan ini berperan juga pada proses fisiologi. Bahan organik sekunder terdapat tiga kelompok besar (Purwantini, 2002).

Salah satu tanaman yang banyak mengandung metabolit sekunder adalah tanaman maja (*Aegle marmelos L.*). Tanaman maja atau disebut dengan mojo, adalah sejenis tumbuhan subtropis yang mudah tumbuh dan berkembang di hampir seluruh wilayah di Indonesia. Tanaman maja juga sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah yang matang dapat diiris-iris, dikeringkan dan digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Daun maja mengandung saponin dan tanin, disamping itu kulitnya mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol (Nurcahyati, 2008). Tanaman maja digunakan sebagai penelitian karena di berbagai struktur tanaman seperti

buah, kulit, dan daunnya memiliki kandungan antioksidan. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya menangkap radikal bebas (Kuntorini & Astuti, 2016).

Radikal bebas sendiri merupakan zat berbahaya yang dapat terbentuk secara alami dari dalam tubuh. Penggunaan radikal bebas untuk analisis aktivitas antioksidan merupakan salah satu metode yang paling populer. Salah satu indikasi bahwa sampel uji berefek sebagai antioksidan adalah apabila sampel uji tersebut mempunyai kemampuan untuk menangkap radikal. Salah satu radikal bebas yang digunakan adalah radikal DPPH (Nugraha *et al.*, 2017).

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Pengujian tersebut bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat pada buah, kulit, dan daun maja setelah dilakukan uji metabolit sekunder. Metode tersebut dilakukan pengamatan terhadap penangkapan radikal DPPH secara spektrofotometri visibel. Pengujian antiradikal bebas menggunakan metode DPPH diperoleh data yang selanjutnya diolah menggunakan rumus %inhibisi. Di Indonesia, penelitian mengenai identifikasi senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja masih jarang dilakukan. Berdasarkan kondisi tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja menggunakan metode uji metabolit sekunder serta mengetahui aktivitas antioksidan dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

DPPH. Metode Spektrofotometri UV-Vis digunakan karena mudah dan cocok dilakukan dengan peredaman DPPH. Metode Spektrofotometri UV-Vis juga dapat digunakan untuk informasi baik analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif (Mardiana & Yunita, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan pengujian metabolit sekunder dan uji anti radikal bebas dengan menggunakan metode DPPH, dimana metode ini dipilih karena merupakan metode sederhana untuk evaluasi aktivitas anti radikal bebas (Amic *et al.*, 2003).

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Adakah kandungan metabolit sekunder pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.)?
2. Manakah kandungan aktivitas antioksidan yang paling baik pada ekstrak buah, kulit dan daun maja(*Aegle marmelos* L.)?

1.3 Batasan Masalah

Dari demikian permasalahan yang ada penulis perlu memberikan batasan-batasan masalah, yaitu sebagai berikut:

1. Buah, kulit, dan daun maja diperoleh dari daerah Slerok Kota Tegal Jawa Tengah
2. Pengujian metabolit sekunder pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja secara kualitatif

3. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi perbandingan 1:10 dengan pelarut etanol 70%
4. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan Fase diam (plat silika GF₂₅₄) dan Fase gerak (n-butanol:asam asetat:air) dengan perbandingan (4 : 1 : 5)
5. Metode uji penentuan aktivitas antioksidan menggunakan peredaman DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
6. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.)
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.)

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian adalah :

1. Memberikan informasi kepada pembaca tentang kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.)
2. Memberikan informasi kepada pembaca tentang aktivitas antioksidan pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.)

1.6 Keaslian Penelitian

Penelitian ini merupakan hasil pemikiran penulis berdasarkan latar belakang masalah, kemudian dari latar belakang ditentukan judul Perbandingan Uji Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Buah, Kulit, dan Daun Maja dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

No.	Pembeda	Peneliti 1 (Khasanah <i>et al.</i> , 2014)	Peneliti 2 (Wulandari, Septi, 2017)	Peneliti 3 (Rindi, Dwi, 2020)
1.	Judul	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	Senyawa Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Buah Sirsak Gunung (<i>Annona montana</i>)	Perbandingan Uji Metabolit Sekunder pada Ekstrak Buah, Kulit, dan Daun Maja dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis
2.	Sampel (Subjek) Penelitian	Kulit Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	Buah Sirsak Gunung (<i>Annona montana</i>)	Buah, Kulit, dan Daun Maja (<i>Aegle marmelos L.</i>)
3.	Variabel Penelitian	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik	Uji Fitokimia Secara Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Buah Sirsak Gunung	Uji Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan pada Buah, Kulit, dan Daun Maja
4.	Metode Pengujian	Ekstraksi Metode Maserasi dan Peredaman Radikal Bebas	Ekstraksi Metode Maserasi dan Peredaman Radikal Bebas	Ekstraksi Metode Maserasi dan Peredaman Radikal Bebas

5.	Hasil	dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Aktivitas Antioksidan yang di dapatkan bersifat aktif yaitu dengan mendapatkan hasil IC_{50} sebesar 54,458 μ g/ml	dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Positif Mengandung Senyawa Metabolit Sekunder Terpenoid dan Memiliki Aktivitas Antioksidan	dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Dari Ketiga Sampel Memiliki Perbedaan Kandungan Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Paling Kuat Terdapat Pada Daun Maja
6.	Aspek Lain	Menggunakan Pelarut Etanol 70%	Menggunakan Pelarut Etanol 70%	Menggunakan Pelarut Etanol 70%

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan Pustaka

Buah maja merupakan tanaman dari famili Rutaceae, yang penyebarannya tumbuh di dataran rendah hingga ketinggian kurang lebih 500 mdpl. Tumbuhan ini terdapat di negara Asia Selatan dan Asia Tenggara termasuk di Indonesia. Pohon maja mampu tumbuh di lahan basah seperti rawa-rawa maupun di lahan kering dan ekstrim, pada suhu 49⁰ C Pada musim kemarau hingga -7⁰ C (Rismayani, 2013).

2.1.1 Klasifikasi Buah Maja

Klasifikasi buah maja menurut BPOM RI. 2008:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Rutaceae
Marga	: Aegle
Jenis	: <i>Aegle marmelos</i> (L.) Correa

2.1.2 Morfologi Buah Maja

Buah berwarna hijau saat belum matang dan warnanya berubah menjadi kekuningan ketika sudah tua. Daging buahnya memiliki 8 sampai 15 segmen. Daging buah berwarna kuning pucat, lunak, manis, bergetah, dan berbau harum. Bijinya kecil berukuran 1 cm tertanam di dalam daging buah. Bijinya keras, gepeng berbentuk persegi panjang, berbulu, dan masing-masing dilapisi kantung perekat (Nigam, 2015).



Gambar 2.1. Buah Maja (*Aegle marmelos* L.)

Sumber : Dokumentasi Pribadi

2.1.3 Morfologi Kulit Maja

Maja merupakan tanaman perdu dengan kulit buah berwarna hijau sebesar bola voli dan memiliki kulit tempurung yang sangat keras, bahkan dua kali lebih keras dari tempurung kelapa sehingga tempurung buah maja banyak digunakan sebagai bahan perkakas rumah tangga, mulai gayung air, takaran beras, serta tempat penyimpanan aneka biji-bijian (Rismayani, 2013).



Gambar 2.2. Kulit Buah Maja (*Aegle marmelos* L.)

Sumber : Dokumentasi Pribadi

2.1.4 Morfologi Daun Maja

Daun berbentuk oval atau lancet, panjangnya 4-10 cm, lebar 2-5 cm dan daunnya terdiri dari 3-5 helai. Daun bertangkai panjang dan beringgit mempunyai titik tembus cahaya (Nigam, 2015).



Gambar 2.3. Daun Maja (*Aegle marmelos* L.)

Sumber : Dokumentasi Pribadi

2.1.5 Kandungan Buah, Kulit, dan Daun Maja

Amit dan Rashmi (2011) menyatakan bahwa kandungan buah maja diantaranya alkaloid, terpenoid, polifenol, saponin, tanin, dan

plobatanin. Penelitian lain juga disebutkan pula kandungan buah maja diantaranya alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin (Sridhar 2014). Sedangkan menurut Rismayani (2013), buah Maja selain mengandung marmelosin juga minyak atsiri, pektin, saponin, dan tanin. Senyawa saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C₂₇) dengan molekul karbohidrat. Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saponin. Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat dan apabila dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin. Molekul yang dimiliki oleh senyawa saponin inilah yang menyebabkan buah maja berbusa, mempunyai sifat antieksudatif, inflamatori dan haemolisis (merusak sel darah merah).

Buah maja mengandung komponen tanin 9%, sedangkan pada kulit buah mencapai 20% (Chavda *et al.*, 2012). Komponen kimia tanin yang terdapat pada kulit buah maja dapat dimanfaatkan sebagai obat. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder golongan senyawa fenol yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu, sebagai adstringensia, antidiare, antibakteri, dan antioksidan (Hagerman, 2002).

Daun maja mengandung γ -sitosterol, aegelin, lupeol, rutin, marmesinin, β -sitosterol, flavon, glikosida, oisopentenyl halfordioliol, marmeline dan phenylethyl cinnamamides. Limonene (82,4%) merupakan penyusun utama dari daun Aegle marmelos dan penanda

karakteristik untuk identifikasi sampel minyak *Aegle marmelos* (Patel, Garach, Chakraborty, & Kamath, 2012).

2.1.6 Manfaat Buah, Kulit, dan Daun Maja

Buah maja ternyata dapat digunakan sebagai bahan baku pestisida nabati. Tanaman maja juga sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah yang matang dapat digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Kulit batangnya digunakan untuk meracuni ikan. Akar maja digunakan sebagai obat penenang debaran jantung, gangguan pencernaan, dan bengkak lambung. Daun maja mengandung saponin dan tanin, disamping itu akar dan kulit batangnya mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol (Nurcahyati, 2008). Selain itu getah maja juga dapat digunakan sebagai obat yang berfungsi sebagai perekat untuk obat-obatan tablet (Patil *et al.*, 2010).

2.1.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Anonim, 2000). Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau langsung menurut cara yang cocok, diluar pengaruh matahari langsung. Sebagai cairan penyari digunakan air, eter, atau campuran etanol dan air. Penyarian simplisia dengan air dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Penyarian dengan campuran etanol dan air dilakukan dengan cara perkolasi (Anonim, 1979). Pemilihan penyari

yang baik mempunyai kriteria murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Anonim, 1989).

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat dalam simplisia dalam bentuk yang mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya. Dalam sediaan ekstrak dapat distandarisasikan kadar zat berkhasiat sedangkan kadar zat berkhasiat dalam simplisia sukar didapat yang sama (Anief, 2003).

2.1.8 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain waktu, suhu, jenis pelarut, perbandingan bahan dan pelarut, dan ukuran partikel. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak (Pratiwi, 2010). Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Novitasari dan Putri, 2016).

2.1.9 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:

1. 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.

2. 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 aselli*) dan madu (*Mel depuratum*).

3. 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 species diikuti dengan nama bagian tanaman. Contoh : merica dengan nama species *Piperis albi* maka nama simplisianya disebut sebagai *Piperis albi Fructus*. *Fructus* menunjukkan bagian tanaman yang artinya buah (Fatyanti, 2017).

2.1.10 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan dan di totolkan berupa bercak pada plat KLT. Setelah plat ditempatkan didalam bejana ditutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), maka akan terjadi pemisahan senyawa.

Prinsip 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 (H. Putri, 2016).

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

(Rahmawati, 2015)

Keterangan :

1. Fase Diam (Lapisan Penyerap)

Lapisan dibuat dari salah satu penyerap yang khusus digunakan untuk KLT yang dihasilkan oleh berbagai perusahaan. Penyerap yang umum digunakan adalah silica gel, aluminium oksida, selulosa, dan turunannya. Silica gel ini menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung pada cara pembuatannya, sehingga silica gel ini telah diterima sebagai bahan standar (H. Putri, 2016).

2. Fase Gerak (Pelarut Pengembang)

Fase gerak adalah medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak didalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan sistem pelarut multi komponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen. Angka

banding campuran dinyatakan dalam bagian volume sedemikian rupa sehingga volume total 100 (H. Putri, 2016).

2.1.11 Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas, pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk antivirus, antiinflamasi (Qinghu Wang dkk, 2016), kardioprotektif, antidiabetes, antikanker (M.M. Marzouk, 2016), anti penuaan, antioksidan (Vanessa dkk, 2014) dan lain-lain.

2.1.12 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang sangat berguna bagi tubuh karena antioksidan dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas di dalam tubuh yang terbentuk pada saat proses metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolic yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan spesies oksigen yang potensial bersifat toksik dapat dinamakan pro-oksidan. Sebaliknya, senyawa dan reaksi yang mengeluarkan spesies oksigen tersebut, menekan pembentukannya atau melawan kerjanya disebut antioksidan. Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses

pengolahan, dan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Rohmatussolihat, 2009).

Antioksidan merupakan inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tak reaktif yang relative stabil (Widodo, 2015).

Antioksidan bereaksi dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Kemudian DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) yang lebih stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Kuntorini & Astuti, 2016).

2.1.13 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal bebas segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi, yaitu pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, penambahan lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, dan pembentukan senyawa

kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Leha, 2017).

Antioksidan dikelompokkan menjadi tiga berdasarkan fungsi dan mekanismenya, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier. Antioksidan primer (antioksidan pemecah rantai), yaitu antioksidan yang dapat bereaksi dengan radikal lipid lalu mengubahnya ke bentuk yang stabil. Antioksidan dapat dikatakan sebagai antioksidan primer jika dapat mendonorkan atom hidrogennya secara cepat ke radikal lipida (RO^*) dan turunan antioksidan disebut (A^*) lebih stabil dibanding antioksidan lipid, atau mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil. Antioksidan primer yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GPx). Enzim ini dapat melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Antioksidan sekunder (antioksidan pencegah) didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat memperlambat laju reaksi autooksidasi lipid. Antioksidan ini bekerja dengan berbagai mekanisme, seperti mengikat ion metal, menangkap oksigen, memecah hidroperoksida ke bentuk-bentuk non radikal, menyerap radiasi UV atau mendeaktifkan singlet oksigen. Contoh yang populer dari antioksidan sekunder ini adalah Vitamin E, Vitamin C, dan betakaroten. Antioksidan tersier, merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk golongan ini adalah enzim metionin

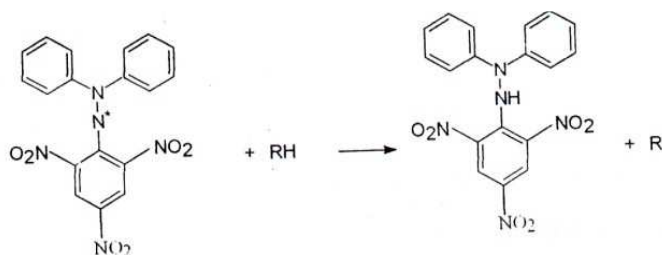
sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA pada penderita kanker (Leha, 2017).

2.1.14 Metode Uji Antioksidan dengan Metode DPPH

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Prinsip uji DPPH adalah penghilang warna untuk antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi dengan panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat adalah radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk non radikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Bendra, 2012).

Prinsip dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yaitu reaksi penangkapan atom hydrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas DPPH untuk mendapatkan pasangan electron dan mengubahnya menjadi difenil pikril hidrazin (DPPH-H) metode perendaman radikal DPPH ini berdasarkan reaksi reduksi larutan methanol radikal DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Prosedurnya melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimum yang sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan DPPH (Bendra, 2012).

Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai *inhibition concentration* 50% merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan suatu senyawa. Suatu senyawa dikatakan memiliki antioksidan sangat tinggi jika nilai kurang dari 50 ml, dikatakan memiliki antioksidan tinggi jika nilai 50-100 ml, dan dikatakan aktivitas antioksidan rendah jika nilai lebih dari 150 ml (Bendra, 2012).



Gambar 2.4.Reaksi reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (antioksidan) (Mailandari, 2012).

2.1.14 Spektrofotometri UV-Vis

1. Pengertian Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan metode analisis yang didasarkan pada absorpsi radiasi elektromagnet. Cahaya terdiri dari radiasi terhadap mana mata manusia peka, gelombang dengan panjang berlainan akan menimbulkan cahaya yang berlainan sedangkan campuran cahaya dengan panjang-panjang ini akan menyusun cahaya putih. Cahaya putih meliputi seluruh spektrum nampak 400-760 nm. Spektrofotometri ini hanya terjadi bila

terjadi perpindahan elektron dari tingkat energi yang rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi (Gandjar & Rohman, 2012).

Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Gandjar & Rohman, 2012).

2. Komponen Instrument Spektrofotometri Uv-Vis

a. Sumber Radiasi

Sumber radiasi pada spektrofotometri harus memiliki pancaran radiasi yang stabil dan intensitasnya tinggi.

b. Monokromator

Monokromator adalah alat yang akan memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen panjang gelombang tertentu.

c. Sel Kuvet

Kebanyakan spektrofotometri melibatkan larutan dan karenanya kebanyakan kuvet adalah sel untuk menaruh cairan ke dalam berkas cahaya spektrofotometri. Sel itu haruslah

meneruskan energy cahaya dalam daerah spectra yang diamati, jadi sel kaca untuk daerah tampak, sel kuarsa atau kaca silica tinggi istimewa untuk daerah ultraviolet.

d. Detektor

Detektor akan menangkap sinar yang diteruskan oleh larutan. Sinar kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh amplifier dan dalam rekorder dan ditampilkan dalam bentuk angka-angka pada reader (computer). Metode umum yang mudah dipakai untuk menjelaskan yaitu penggunaan serapan ultra-violet. Jumlah cahaya yang diserap akan bergantung pada jumlah senyawa tertentu yang melewati melalui berkas pada waktu itu (Gandjar & Rohman, 2012).

3. Mekanisme Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Mekanisme kerja alat spektrofotometri Uv-Vis adalah sinar dari sumber sinar dilewatkan melalui celah masuk, kemudian sinar dikumpulkan agar sampai ke prisma untuk difraksikan menjadi sinar-sinar dengan panjang gelombang tertentu. Selanjutnya, sinar dilewatkan ke monokromator untuk menyeleksi panjang gelombang yang diinginkan. Sinar monokromatis melewati sampel dan akan ada sinar yang diserap dan diteruskan. Sinar yang diteruskan akan dideteksi oleh detector. Radiasi yang diterima oleh detector diubah menjadi sinar listrik yang kemudian terbaca (Gandjar & Rohman, 2012).

2.2 Hipotesis

1. Terdapat kandungan metabolit sekunder pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos*L.).
2. Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

Pada penelitian ini, objek yang akan diteliti adalah buah, kulit, dan daun maja. Dalam hal ini peneliti akan membuat ekstrak dari buah, kulit, dan daun maja kemudian menguji kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

3.2 Sampel dan Teknik Sampling

Sampel adalah sebagian yang diambil dari populasi, sehingga sampel dalam penelitian ini adalah tanaman maja yang meliputi bagian buah, kulit, dan daun (*Aegle marmelos* L.) yang diperoleh dari daerah Slerok Kota Tegal, Jawa Tengah. Sedangkan bahan-bahan lainnya diperoleh di Laboratorium Politeknik Harapan Bersama Tegal. Teknik sampling yang digunakan yaitu *simple random sampling*.

Simple random sampling merupakan teknik acak yang sederhana, karena pengambilan sampel dilakukan secara acak tanpa melihat ukuran sampel yang diteliti. Kemudian sampel di ekstraksi menggunakan metode maserasi.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah faktor-faktor yang menjadi pokok permasalahan yang ingin diteliti atau penyebab utama suatu gejala. Sesuai dengan tujuan penelitian yang ingin dicapai. Dalam hal ini variabel bebasnya adalah Buah, Kulit, dan Daun Maja

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang besarnya tergantung dari variabel bebas yang diberikan dan diukur untuk menentukan ada tidaknya pengaruh (kriteria dan variabel bebas). Variabel dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dan aktivitas antioksidan ekstrak buah, kulit, dan daun maja.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga tidak akan mempengaruhi variabel yang akan diteliti oleh peneliti. Dalam penelitian ini adalah asal tanaman, metabolit sekunder, 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 D3 Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal

3.4.2 Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah timbangan analitik, maserator, beaker glass, batang pengaduk, kain flanel, corong kaca, kertas saring, waterbath, cawan porselin, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur, mikropipet, stirer, sendok tanduk, labu ukur, spektrofotometer Genesys US UV-Vis (Thermo Scientific), objek glass, kaca arloji, bejana kromatografi dan tutup bejana, pipa kapiler, kertas penjenuh, bunsen, dan kaki tiga.

Bahan

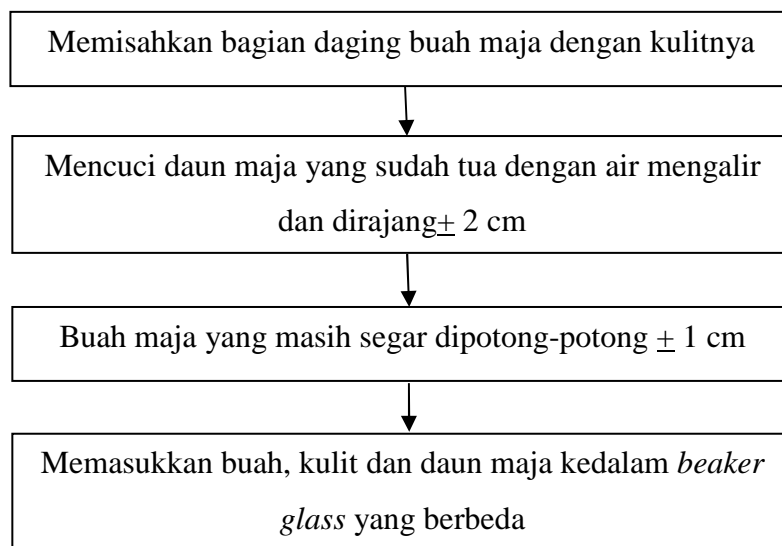
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah maja, kulit maja, daun maja, etanol 70%, aquadest, HCL 2N (Brataco/Bratachem), biuret, FeCl_3 5%, larutan gelatin 1%, HCL pekat, reagen mayer, reagen bauchardat, benedict, fehling A dan B, SbCl_3 , sudan III (Merck, 25gr), etanol 90%, KmnO_4 1N, serbuk DPPH (Sigma Aldrich), serbuk vitamin C, silica gel 60 F₂₅₄, butanol, asam asetat, air, dan metanol.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.) diperoleh dari Slerok, Kota Tegal, Jawa Tengah. Buah dan kulit dipisahkan kemudian daunnya didapat yang sudah tua berwarna hijau tua berukuran

± 15 cm. Daun dicuci dengan air mengalir kemudian dikering anginkan dan dirajang dengan ukuran 2 cm. Ditimbang masing-masing sampel 10 gram dan selanjutnya di ekstraksi.

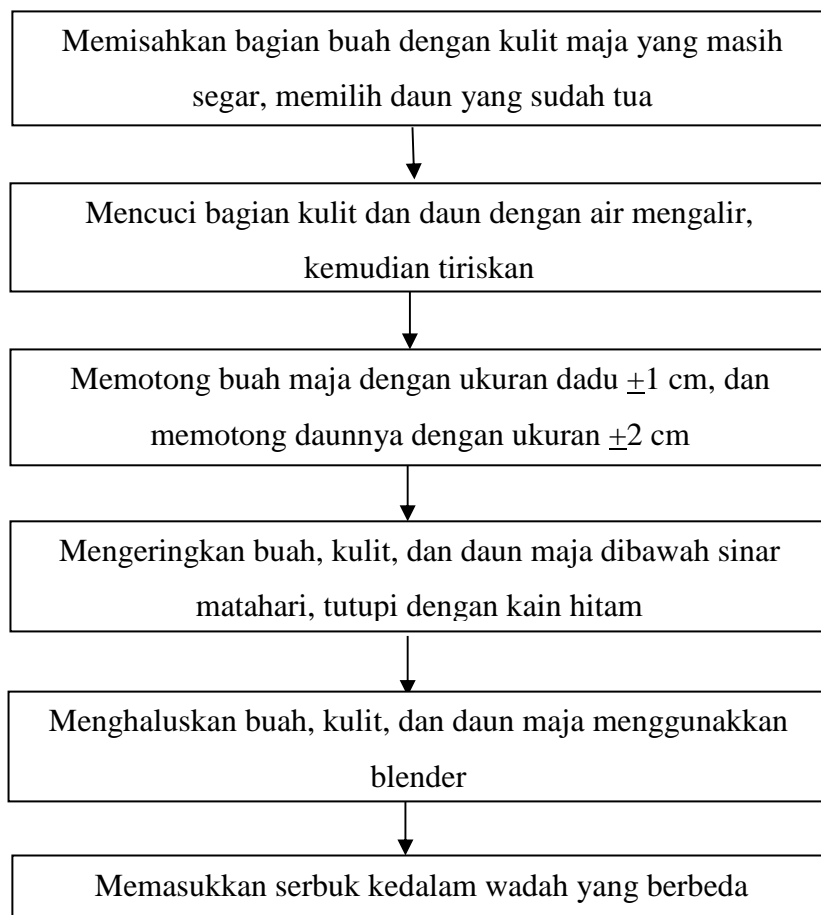


Gambar 3.1. Pengambilan Sampel

3.5.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dilakukan dengan cara memisahkan bagian buah dengan kulit maja yang masih segar, serta memilih bagian daun maja yang sudah tua atau yang berwarna hijau tua. Kemudian mencuci kulit maja dan daunnya dengan air mengalir, kulit di tiriskan sedangkan daun di angin-anginkan hingga kering kemudian dirajang. Buah dirajang dengan ukuran dadu ± 1 cm, sedangkan daunnya dipotong-potong dengan ukuran ± 2 cm. Buah, kulit, dan daun dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam. Selanjutnya dihaluskan

menggunakan blender, dan dimasukkan kedalam wadah yang berbeda.

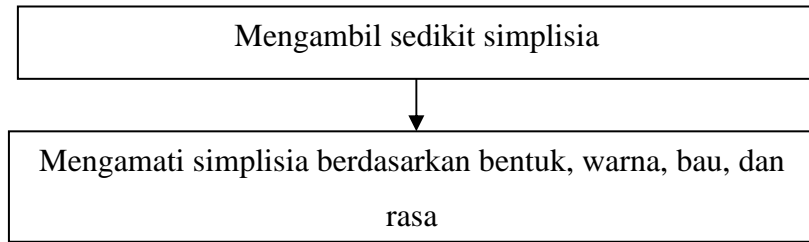


Gambar 3.2. Pembuatan Simplisia

3.5.3 Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik

3.5.3.1 Identifikasi secara makroskopis

Identifikasi simplisia yang dilakukan ada 2, yaitu secara makroskopis dan secara mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan pengamatan secara langsung organoleptis simplisia yang meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa (Paramita, N. L. P. V., dkk, 2019).

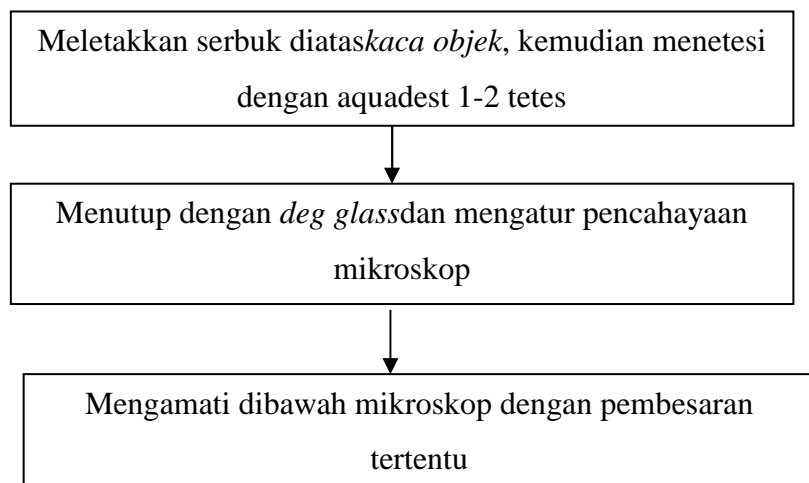


Gambar 3.3. Identifikasi Makroskopis

(Sumber : Paramita, N. L. P. V., dkk, 2019)

3.5.3.2 Identifikasi secara mikroskopis

Identifikasi mikroskopik simplisia dilakukan dengan pembuatan preparat terlebih dahulu. Preparat dibuat dengan cara meletakkan serbuk diatas kaca objek, ditambahkan dengan beberapa tetes aquadest, kemudian ditutup dengan deg glass. Kemudian mengamati menggunakan mikroskop dan mencatat gambar fragmen-fragmennya (Paramita, N. L. P. V., dkk, 2019).

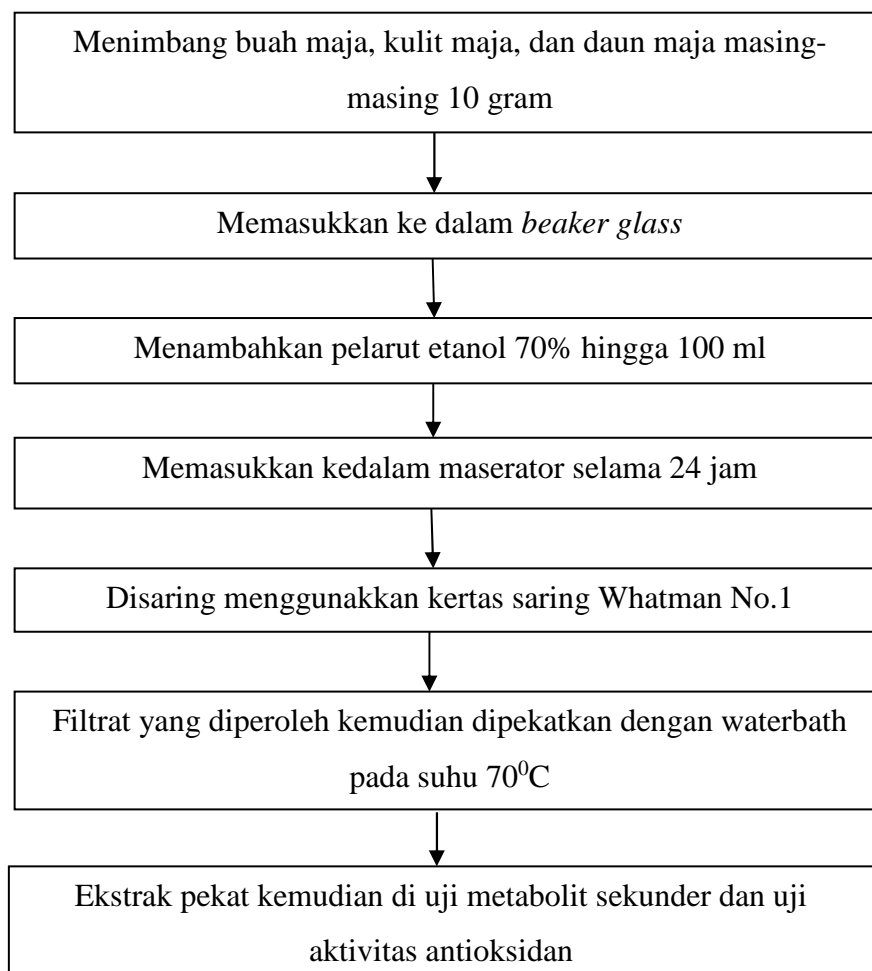


Gambar 3.4. Identifikasi Mikroskopis

(Sumber : Paramita, N. L. P. V., dkk, 2019)

3.5.4 Ekstraksi buah, kulit, dan daun maja dengan metode maserasi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Ditimbang sebanyak 10 gram sampel buah, kulit, dan daun maja, kemudian masing-masing sampel dimasukkan kedalam beaker glass. Ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 100 ml atau perbandingan sampel dengan pelarutnya adalah 1:10. Beaker glass ditutup dengan aluminium foil kemudian dimaserasi pada suhu kamar sesuai perlakuan yaitu waktu maserasi 24 jam. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan waterbath pada suhu 70⁰C dan didapatkan ekstrak kental (Rai Widarta & Arnata, 2014).



Gambar 3.5.Ekstraksi Buah, Kulit, dan Daun Maja dengan Metode Maserasi

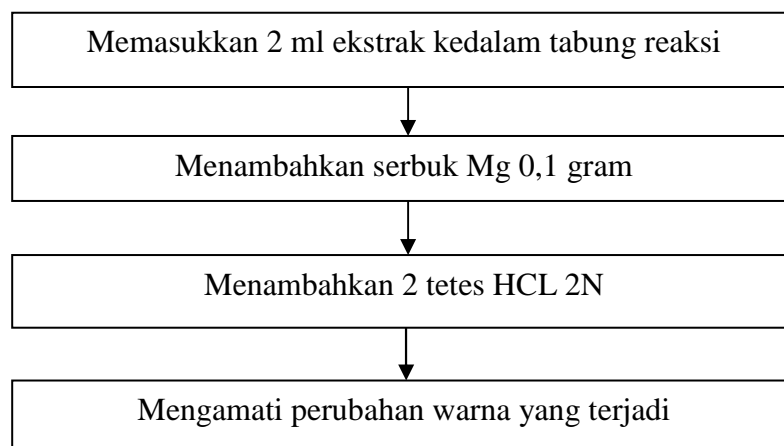
(Sumber : Rai Widarta & Arnata, 2014)

3.5.5 Uji Metabolit Sekunder

1. Uji Senyawa Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara memasukkan 2 ml ekstrak sampel ditambahkan dengan serbuk Mg 0,1 gr kemudian ditambahkan dengan 2 tetes HCL 2N. Jika

terbentuk warna merah maka positif mengandung flavonoid (Mustikasari & Ariyani, 2010).

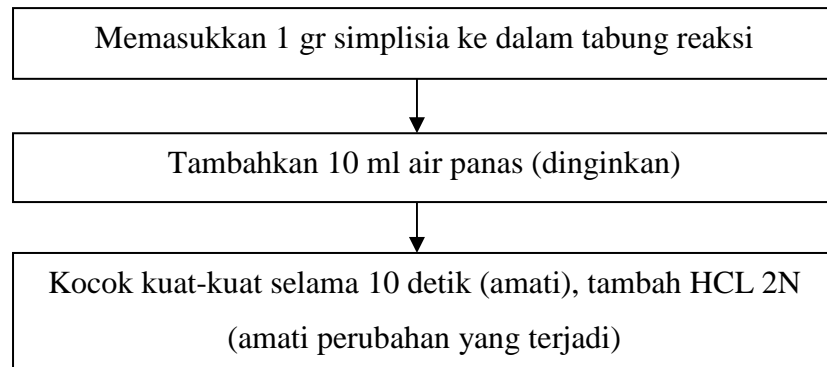


Gambar 3.6. Uji Senyawa Flavonoid

(Sumber : Mustikasari & Ariyani, 2010)

2. Uji senyawa saponin

1 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kemudian di kocok kuat-kuat selama 10 detik positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm tidak kurang 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCL 2N, buih tidak hilang (Agustina, S., Ruslan & Wiraningtyas, 2016).

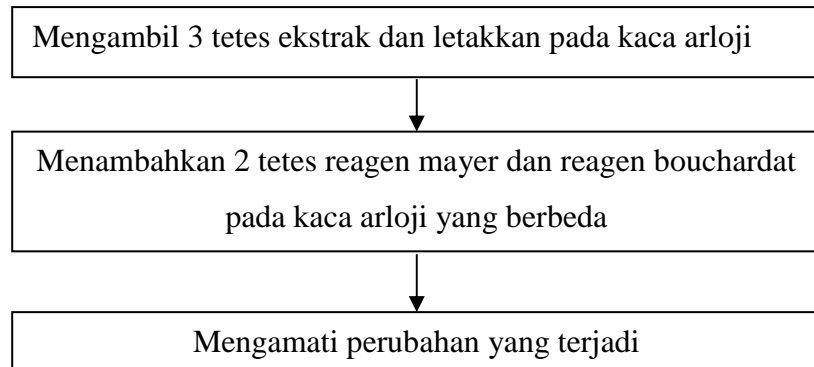


Gambar 3.7. Uji Senyawa Saponin

(Sumber : Agustina, S., Ruslan & Wiraningtyas, 2016)

3. Uji senyawa Alkaloid

- 1). Tiga tetes ekstrak ditambahkan dengan 2 tetes larutan reagen Mayer, kemudian dilakukan pengamatan yang terjadi.
- 2). Tiga tetes ekstrak ditambahkan dengan 2 tetes larutan reagen Bouchardat, kemudian dilakukan pengamatan yang terjadi. Alkaloid positif jika terbentuk endapan kuning dengan pereaksi Mayer, dan alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan berwarna kecoklatan dengan pereaksi Bouchardat (Pardede dkk., 2013).

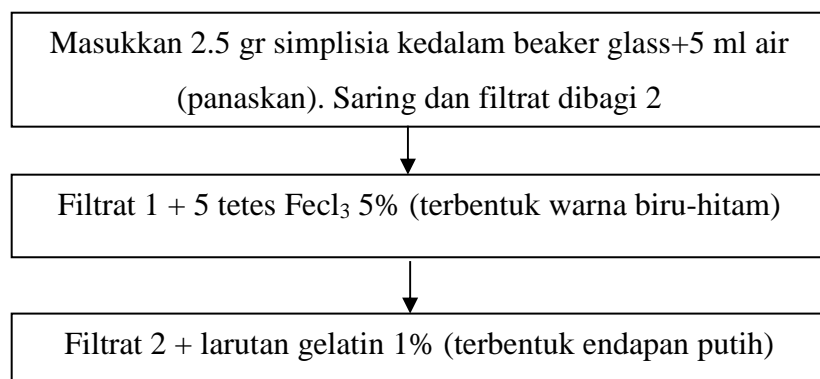


Gambar 3.8. Uji Senyawa Alkaloid

(Sumber : Pardede dkk., 2013)

4. Uji Senyawa Tanin

Untuk filtrat 1 (3 tetes ekstrak) + 5 tetes FeCl_3 5% (Jika terbentuk warna biru-hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol sebagai penyusun tannin). Pada filtrat 2 (3 tetes ekstrak) + larutan gelatin 1% (Jika terbentuk endapan putih maka menunjukkan adanya senyawa tanin) (Marlinda dkk, 2012).

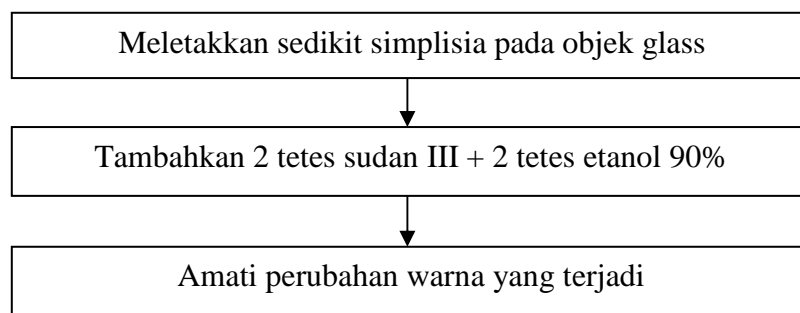


Gambar 3.9. Uji Senyawa Tanin

(Sumber : Marlinda dkk, 2012)

5. Uji senyawa minyak atsiri

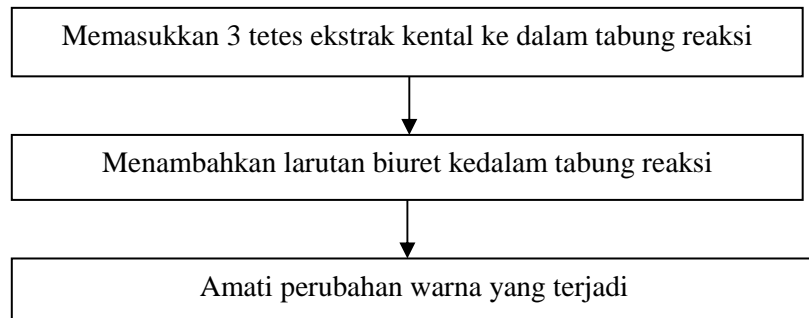
Identifikasi senyawa minyak atsiri dilakukan dengan cara mengambil sedikit simplisia dan diletakkan pada objek glass. Lalu tambahkan 2 tetes sudan III, tambahkan kembali dengan 2 tetes etanol 90%. Kemudian mengamati perubahan warna yang terjadi (Jika timbul warna jingga atau merah maka menunjukkan adanya MA pada simplisia).



Gambar 3.10. Uji Minyak Atsiri

6. Uji Protein

Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan 3 tetes ekstrak kental ke dalam tabung reaksi. Kemudian menambahkan larutan biuret kedalam tabung reaksi hingga terbentuk perubahan warna. Jika terbentuk warna ungu-biru violet maka positif mengandung protein (Purnama *et al.*, 2019).



Gambar 3.11 .Uji Protein

(Sumber : Purnama *et al.*, 2019).

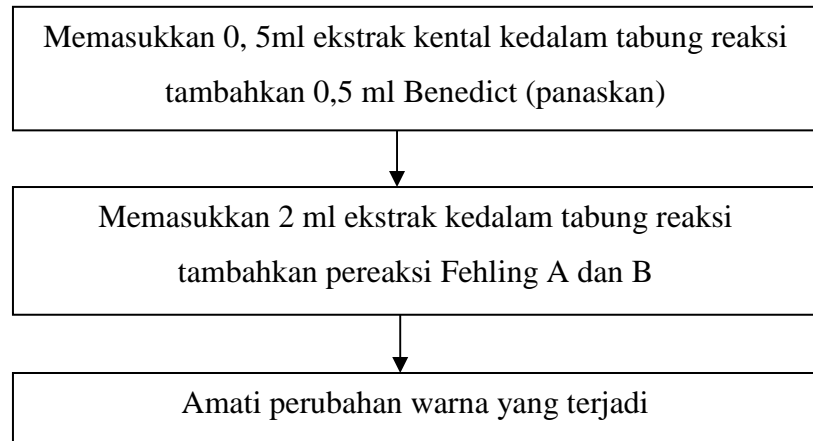
7. Uji Karbohidrat

Benedict

Untuk 0,5 ml ekstrak, tambahkan 0,5 ml reagen Benedict. Campuran dipanaskan sampai mendidih selama 2 menit. Presipitat warna orange kemerahan karakteristik menunjukkan adanya gula (Banu & Cathrine, 2015).

Fehling

Untuk 2 ml ekstrak tanaman, ditambahkan pereaksi Fehling A dan B dalam jumlah yang sama banyak kedalam larutan uji, lalu akan terjadi reduksi menghasilkan endapan kupro oksida berwarna merah bata (Hanani, 2017).

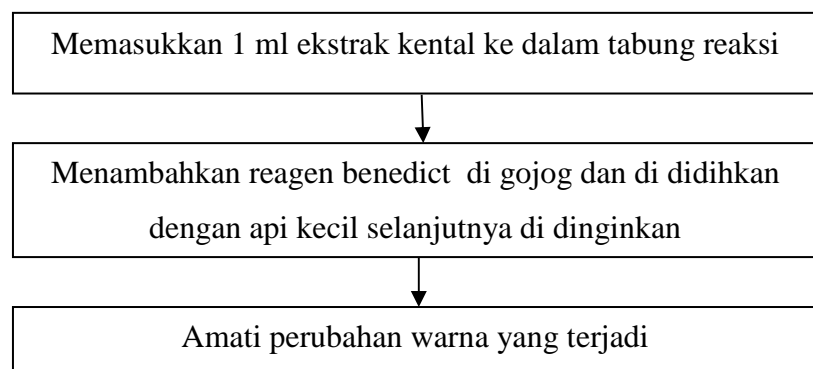


Gambar 3.12 .Uji Karbohidrat

(Sumber :Banu & Cathrine, 2015) & (Hanani, 2017)

8. Uji Gula Pereduksi

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian tambahkan reagen Benedict, gojog, kemudian didihkan dengan api kecil selanjutnya di dinginkan. Hasil akhir yaitu terbentuk endapan warna merah jika sampel mengandung gula pereduksi (Kusbandari, 2015).

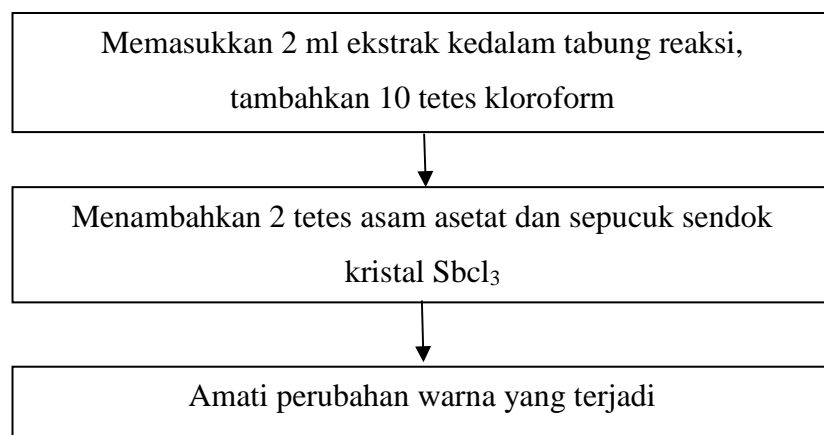


Gambar 3.13 .Uji Gula Pereduksi

(Sumber : Kusbandari, 2015)

9. Uji Vitamin A

Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan 2 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi tambahkan 10 tetes kloroform, tambahkan kembali dengan 2 tetes asam asetat dan sepucuk sendok kristal SbCl_3 (Sari *et al.*, 2019).

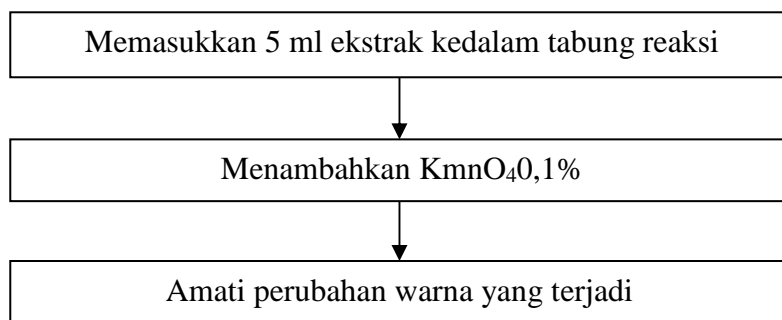


Gambar 3.14 .Uji Vitamin A

(Sari *et al.*, 2019)

10. Uji Vitamin C

Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan 5 ml ekstrak ditambahkan KmnO_4 0,1% kemudian amati perubahan warna, jika KmnO_4 hilang, maka positif mengandung Vitamin A (Mulyani, 2018).



Gambar 3.15 .Uji Vitamin C

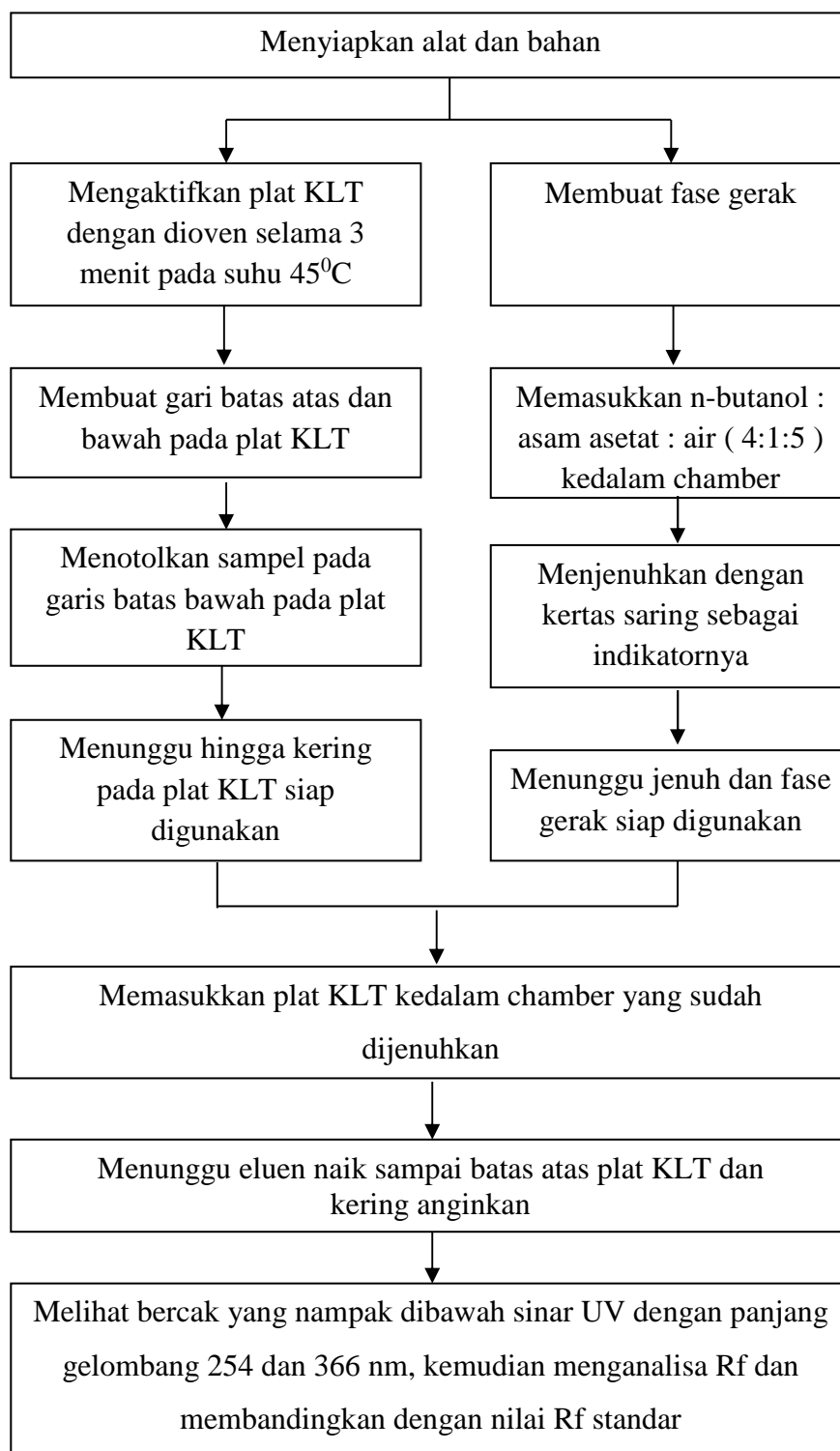
(Sumber : Mulyani, 2018)

3.5.6 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Plat KLT lapis silica gel yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 3 menit. Selanjutnya plat KLT yang sudah dioven diberi garis batas atas dan garis batas bawah masing-masing 1 cm untuk mempermudah penotolan dan mengetahui jarak pelarut yang ditempuh sehingga mempermudah dalam perhitungan R_f. Kemudian membuat fase gerak dengan mengambil n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5), dimasukkan kedalam chamber dan dijenuhkan. Penjenuhan bertujuan agar seluruh permukaan di dalam bejana terisi uap eluen sehingga rambatan yang dihasilkan oleh silica baik dan beraturan. Untuk mengetahui chamber yang berisi fase gerak telah jenuh maka di dalam chamber diberi kertas saring, ketika sudah jenuh eluen akan keluar melalui kertas saring pada proses elusi, silica gel akan mengabsorpsi fase gerak. Proses

selanjutnya masukkan plat KLT yang sebelumnya sudah ditotolkan sampai 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 dikeringkan dengan cara di anginkan kemudian dilihat penampakan noda pada lampu sinar UV 254 dan 366 mn. Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam sejumlah banyak ditandai dengan munculnya noda. Syarat noda yang baik bentuk noda tidak berekor dan jarak noda satu dengan yang lainnya jelas. Proses selanjutnya menganalisa Rf dan membandingkan dengan nilai Rf standar teoritis (Lutfitasari, 2016).

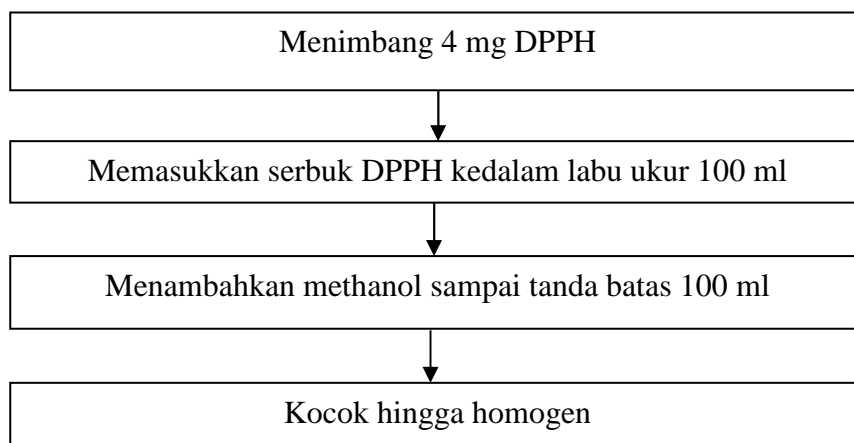


Gambar 3.16. Uji Kromatografi Lapis Tipis

(Sumber : Lutfitasari, 2016)

3.5.7 Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 0,004 g DPPH dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 ml, hingga diperoleh kadar DPPH 0,004% (b/v) (Ratnayani *et al.*, 2012).

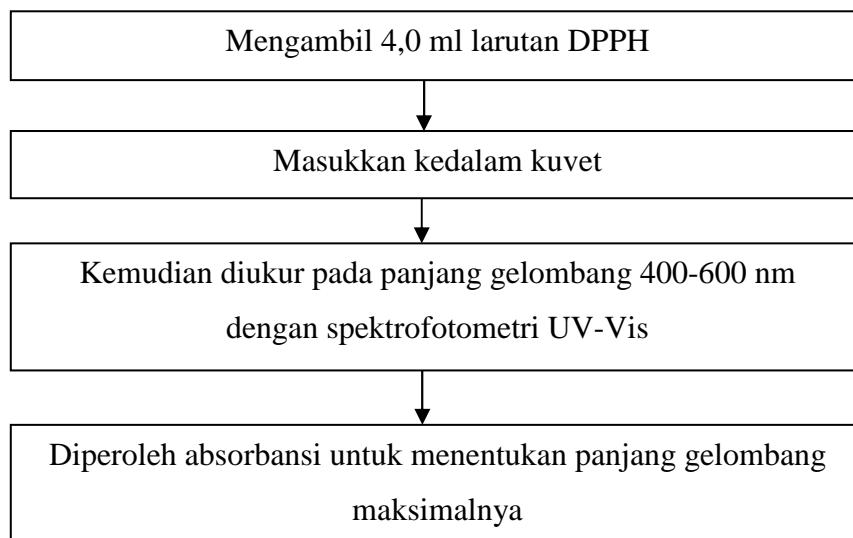


Gambar 3.17.Pembuatan Larutan DPPH

(Sumber : Ratnayani *et al.*, 2012)

3.5.8 Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Memipet sebanyak 4,0 ml larutan DPPH yang baru dibuat. Kemudian dituang kedalam kuvet dan diukur pada gelombang 400-600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimalnya (Khasanah, 2014).

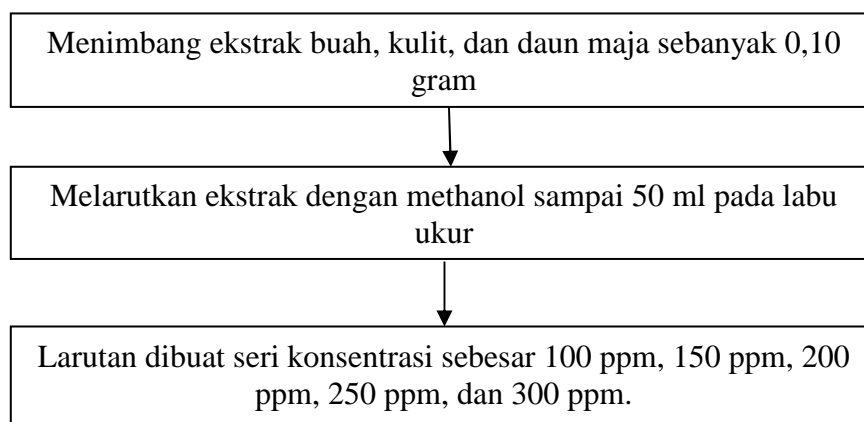


Gambar 3.18.Penentuan Panjang Gelombang

(Sumber : Khasanah, 2014)

3.5.9 Pembuatan Larutan Uji Sampel Hasil Ekstraksi

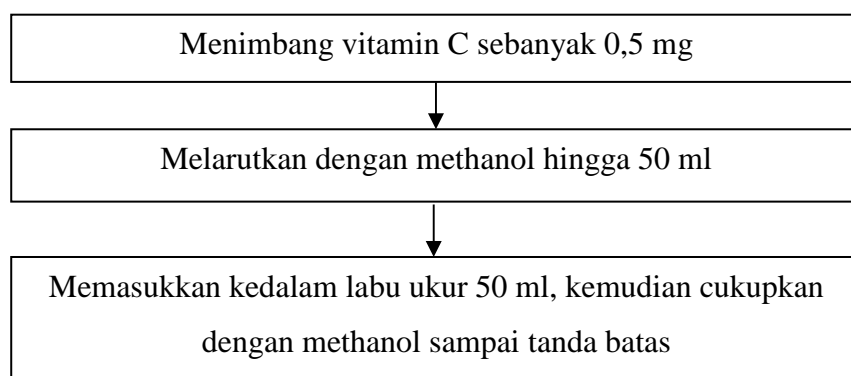
Ekstraksi buah, kulit, dan daun maja ditimbang dengan seksama 0,10 gram, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai 50 ml, pada labu ukur. Kemudian larutan dibuat seri konsentrasi sebesar 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, dan 300 ppm.



Gambar 3.19.Pembuatan Larutan Uji Sampel

3.5.10. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C (100 ppm) Sebagai Kontrol Positif

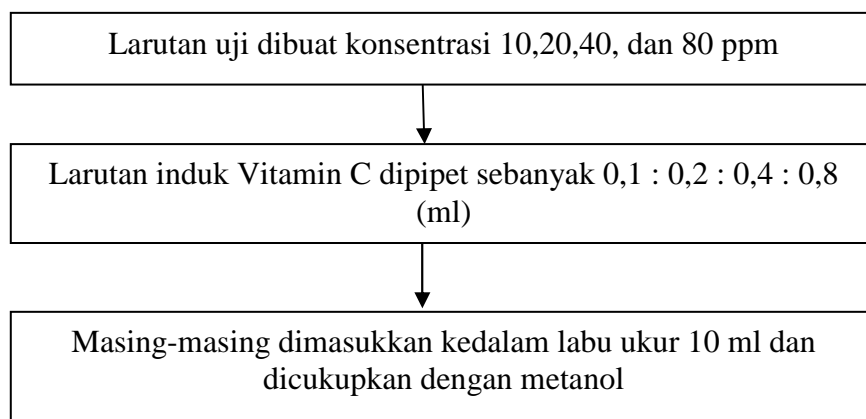
Serbuk Vitamin C sebanyak 0,5 mg, dilarutkan dalam methanol lalu dimasukkan dalam labu ukur 100 ml. Volume dicukupkan dengan methanol sampai tanda batas. Kemudian dari kadar ini dibuat seri konsentrasi sebesar 10, 20, 40, dan 80 ppm.



Gambar 3.20.Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

3.5.11 Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C (10,20,40,80 ppm)

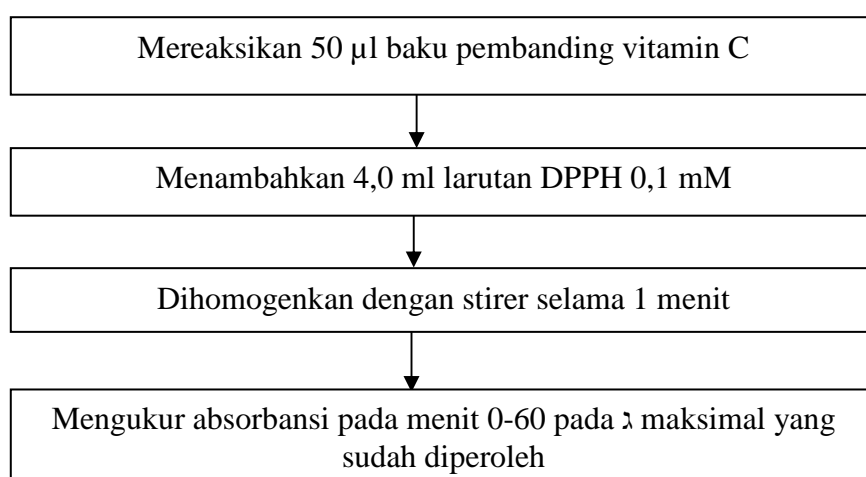
Larutan induk Vitamin C masing-masing di pipet 0,1:0,2:0,4 dan 0,8 ml dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml. Volume dicukupkan dengan methanol sampai tanda batas.



Gambar 3.21.Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C

3.5.12 Penentuan *operating time* larutan DPPH 0,1 mM

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara mereaksikan 50 μ l baku pembanding vitamin C ditambah 4,0 ml larutan DPPH 0,1 mM, dihomogenkan dengan stirer selama 1 menit dan diukur absorbansinya pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 pada λ maksimal yang sudah diperoleh (Nugraheni, 2007).

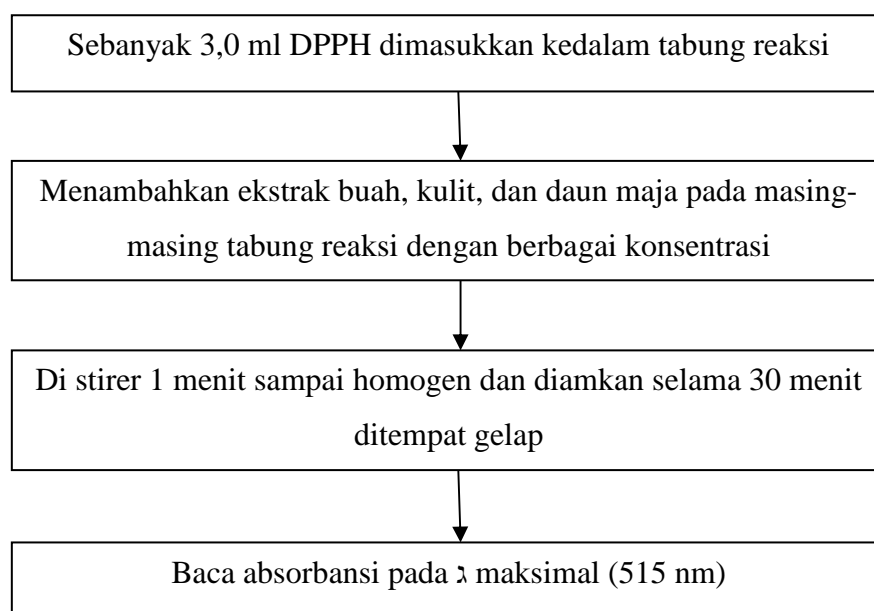


Gambar 3.22. Penentuan *operating time* Larutan DPPH 0,1 Mm

(Sumber : Nugraheni, 2007).

3.5.14 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Sebanyak 3,0 ml DPPH dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan 1,5 ml ekstrak buah, kulit, dan daun maja dengan berbagai konsentrasi, kemudian di stirer 1 menit sampai homogen dan diamkan selama 30 menit ditempat gelap, baca absorbansinya pada λ maksimal (515 nm).



Gambar 3.23. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

3.5.15 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 dinyatakan dengan rumus:

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

(Amelia, 2011)

Nilai IC_{50} didapat dari hubungan antara log konsentrasi dan probit secara regresi linier, semakin kecil nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%. Kemudian IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan probit sebagai sumbu y. Untuk mendapatkan hasil yang baik, maka dalam penelitian ini menggunakan probit. 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:

$$\begin{aligned} y &= ax + b \\ 50 &= ax + b \\ IC_{50} &= \frac{50 - b}{a} \end{aligned}$$

3.5.16 Analisa Hasil

Data hasil pengamatan uji metabolit sekunder pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja yang diperoleh secara teoritis meliputi uji flavonoid, uji saponin, uji alkaloid, uji tanin, uji minyak atsiri, uji protein, uji karbohidrat, uji gula pereduksi, uji vitamin A, dan uji vitamin C.

Data aktivitas antioksidan pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja diperoleh secara teoritis melalui perhitungan IC_{50} dan dibandingkan hasilnya dengan jurnal terstandar.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak buah, kulit, dan daun maja (*Aegle marmelos* L.) dengan metode ekstraksi maserasi. Pada penelitian ini dilakukan analisa metabolit sekunder dengan alasan untuk mengetahui kandungan metabolit yang terdapat pada buah, kulit, dan daun maja. Analisa antioksidan pada masing-masing sampel menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, karena metode ini dapat digunakan secara kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam campuran dengan waktu yang singkat, metode tersebut caranya sederhana dibandingkan dengan alat instrumen kuantitatif yang lain, dan juga memiliki tingkat ketelitian yang baik. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.

4.1 Persiapan Sampel

Buah, kulit, dan daun maja diperoleh dari Slerok Kota Tegal, Jawa Tengah dengan menggunakan teknik *simple random sampling*. Buah dipisahkan dengan kulitnya, dan dirajang tipis-tipis kemudian dimasukkan dalam wadah yang berbeda. Daunnya dipilih yang sudah tua berwarna hijau tua berukuran ± 15 cm. Daun dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dengan cara di angin-anginkan untuk menghindari kerusakan zat aktif. Karena dilihat dari zat aktif berupa flavonoid yang tidak tahan terhadap

suhu tinggi. Sampel tersebut kemudian dijemur dibawah sinar matahari langsung untuk memperoleh simplisia.

4.2 Identifikasi Sampel

Serbuk simplisia buah, kulit, dan daun maja diuji makroskopik dan mikroskopik yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari sampel tersebut.


4.2.1 Uji Makroskopik

Uji makroskopik bertujuan untuk menentukan ciri khas simplisia dengan pengamatan secara langsung organoleptis simplisia yang meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa. Hasil pengamatan dari identifikasi makroskopik sebagai berikut:

Tabel 4.1. Hasil Makroskopis Pada Serbuk Buah, Kulit, Daun Maja

Sampel	Hasil Pengamatan	Gambar
Buah Maja	Bentuk : Serbuk Kasar Warna : Hitam Bau : Khas Aromatik Rasa : Manis Lama-Lama Agak Kelat	
Kulit Maja	Bentuk : Serbuk Kasar Warna : Coklat Muda Bau : Tidak Berbau Rasa : Agak Pahit	

Lanjutan Tabel 4.1

Daun Maja	Bentuk : Serbuk Kasar Warna : Hijau Bau : Bau Lemah Rasa : Tidak berasa	
-----------	--	---

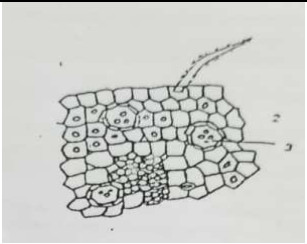



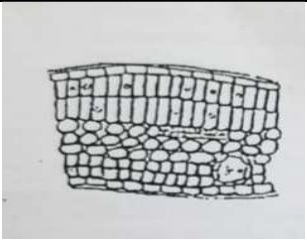

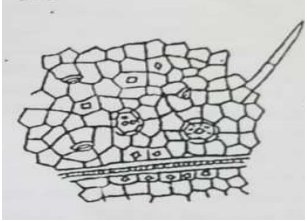

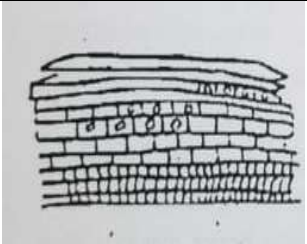



4.2.2 Identifikasi Mikroskopik

Uji mikroskopik mencakup pengamatan terhadap bagian simplisia dan fragmen pengenal dalam bentuk sel, isi sel atau jaringan tanaman serbuk simplisia yang dilakukan pengamatan dibawah mikroskop. Pemeriksaan mikroskopis simplisia buah, kulit, dan daun maja dilakukan dengan pembuatan preparat terlebih dahulu. Preparat dibuat dengan cara meletakkan serbuk simplisia buah, kulit, dan daun maja diatas kaca objek, ditambahkan dengan beberapa tetes aquadest, kemudian ditutup dengan kaca penutup. Preparat diamati dibawah miroskop (Paramita, N. L. P. V., dkk, 2019).



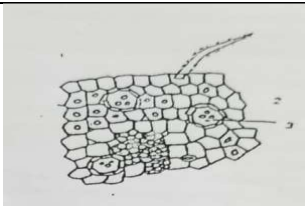

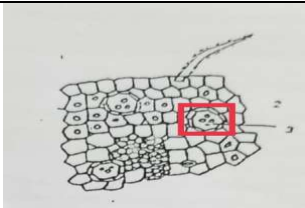

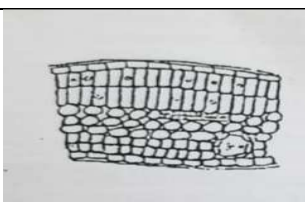



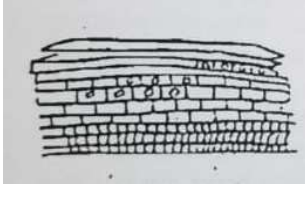

Tabel 4.2.Hasil Uji Mikroskopis Pada Serbuk Buah Maja

Fragmen	Fragmen Mikroskop	Nama Latin
		Rambut penutup

Lanjutan Tabel 4.2

		Epidermis atas dengan palisade artefax
		Kelenjar minyak
		Mesofil
		Epidermis bawah
		Berkas pembuluh dengan serabut sklerenkim
		Kristal kalsium oksalat bentuk prisma



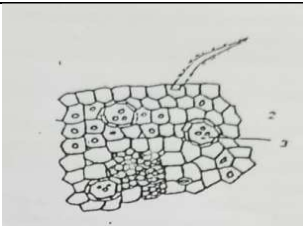

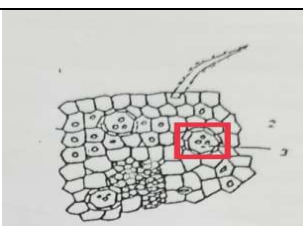

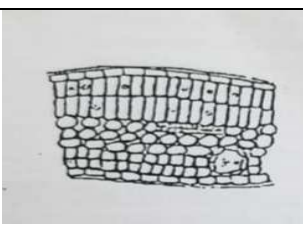

Tabel 4.3. Hasil Uji Mikroskopis Pada Simplisia Kulit Maja

Fragmen	Fragmen Mikroskop	Nama Latin
		Rambut penutup
		Epidermis atas dengan palisade artefax
		Kelenjar minyak
		Mesofil
		Epidermis bawah
		Berkas pembuluh dengan serabut sklerenkim

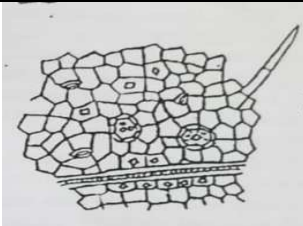

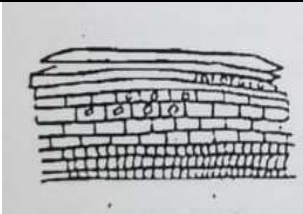
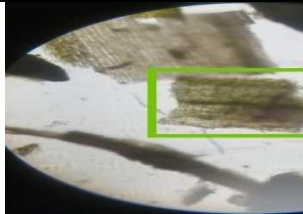


Lanjutan Tabel 4.3

		Kristal kalsium oksalat bentuk prisma
---	--	---------------------------------------

Tabel 4.4. Hasil Uji Mikroskopis Pada Simplisia Daun Maja

Fragmen	Fragmen Mikroskop	Nama Latin
		Rambut penutup
		Epidermis atas dengan palisade artefax
		Kelenjar minyak
		Mesofil

Lanjutan Tabel 4.4

		Epidermis bawah
		Berkas pembuluh dengan serabut sklerenkim
		Kristal kalsium oksalat bentuk prisma

Dari hasil uji mikroskopis pada buah, kulit, dan daun maja, menyatakan bahwa simplisia tersebut menunjukkan hasil sampel sudah sesuai dengan yang ada di Material Medika Indonesia Jilid V 1989, maka dapat dikatakan bahwa sampel yang dipakai benar-benar buah, kulit, dan daun maja.

4.3 Ekstraksi

Pada metode maserasi sampel yang digunakan berupa sampel yang masih segar. Buah dan kulit dipisahkan kemudian daunnya didapat yang sudah tua berwarna hijau tua berukuran ± 15 cm kemudian dilakukan sortasi basah untuk membersihkan dari kotoran atau benda asing. Daun dikering

anginkan dan dirajang dengan ukuran 2 cm. Ditimbang masing-masing sampel 10 gram dan selanjutnya di ekstraksi.

Pembuatan ekstrak buah, kulit, dan daun maja dilakukan dengan metode maserasi, karena merupakan metode sederhana dan sangat cocok untuk menyari bahan yang lembut atau tidak keras serta bahan yang tidak tahan atau rusak karena pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% sebagai cairan penyari karena etanol memiliki kemampuan menyari senyawa pada rentang polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar hingga non polar tidak toksik dibanding dengan pelarut organik lain, tidak mudah ditumbuhi mikroba dan relatif murah (Widjaya, 2012).

Perbandingan sampel dengan pelarut pada buah, kulit, dan daun maja yaitu 1;10 yang dimasukkan dan disimpan pada wadah yang terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis oleh cahaya atau perubahan warna. Masa penyimpanan selama 24 jam dengan pengadukan \pm 3 menit setiap 8 jam. Penggunaan waktu yang singkat bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan terhadap senyawa pada sampel. Tujuan pengadukan pada saat maserasi merupakan kesempatan bereaksi antara bahan dengan pelarut semakin lama sehingga proses penetrasi pelarut kedalam sel bahan semakin baik yang menyebabkan semakin banyak senyawa yang berdifusi keluar sel. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan diatas waterbath untuk menghilangkan kandungan etanolnya.

Tabel 4.5. Hasil Rendemen Ekstrak Buah, Kulit, dan Daun Maja




Sampel	Bobot Awal (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (% ^b / _b)
Buah Maja	10	4,85	48,5
Kulit Maja	10	9,04	90,4
Daun Maja	10	3,28	32,8

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa hasil rendemen yang paling banyak yaitu ekstrak kulit maja. Hal tersebut dikarenakan adanya faktor sirkulasi pelarut dapat meningkatkan laju perpindahan massa senyawa dari sel kulit, dengan demikian kontak zat terlarut (solut) dalam sampel dengan pelarut semakin sering dan diperoleh ekstrak yang lebih banyak. Menurut Handayani *et al.*, (2016) menyatakan bahwa komponen bahan yang terekstrak akan terus meningkat hingga larutan menjadi jenuh, setelah melewati titik jenuh larutan, tidak akan terjadi peningkatan hasil ekstraksi.

4.4 Uji Metabolit Sekunder

Ekstrak yang sudah didapatkan kemudian dilakukan uji metabolit sekunder untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung didalam sampel tersebut. Pengujian metabolit sekunder pada buah, kulit, dan daun maja meliputi uji flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, minyak atsiri, protein, karbohidrat, gula pereduksi, vitamin A, dan vitamin C.

Tabel 4.6.Hasil Kandungan Flavonoid

No	Pustaka (Mustikasari & Ariyani, 2010)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Merah	(Ekstrak Buah) Jingga Kemerahan	+	
2	Merah	(Ekstrak Kulit) Coklat	-	
3	Merah	(Ekstrak Daun) Jingga Kemerahan	+	

Keterangan :




(+) = Positif mengandung senyawa flavonoid

(-) = Tidak mengandung senyawa flavonoid

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa ekstrak buah dan daun maja mengandung senyawa flavonoid dilihat dari hasil berwarna merah. Penambahan HCL bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon flavonoid dengan cara atom H^+ dari asam yang memiliki

sifat keelektronegatifan yang kuat. Serbuk Mg ditambahkan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah. Ion magnesium ini diduga akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak sehingga muncul larutan berwarna merah (Agustina, dkk., 2016).

Tabel 4.7. Uji Kandungan Saponin

No	Pustaka (Agustina, dkk., 2016)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Terbentuk buih	(Buah Maja) Terbentuk buih	+	
2	Terbentuk buih	(Kulit Maja) Tidak terbentuk buih	-	
3	Terbentuk buih	(Daun Maja) Terbentuk buih	+	

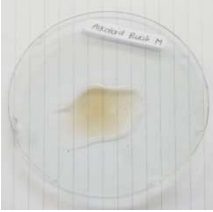
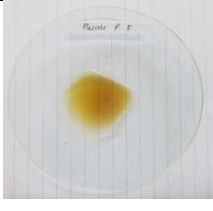
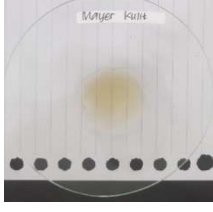
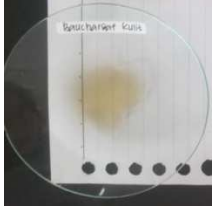

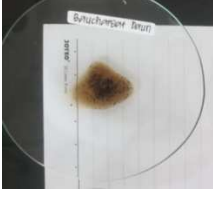
Keterangan :

(+) = Positif mengandung senyawa saponin

(-) = Tidak mengandung senyawa saponin

Tabel 4.7 menunjukkan bahwa sampel yang positif mengandung senyawa saponin terdapat pada ekstrak buah dan daun maja. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil pengamatan yakni terbentuknya buih. Terbentuknya busa pada hasil uji menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Glikosida berfungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid dan terpenoid sebagai gugus nonpolar. Senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel gugus polar menghadap keluar karena mengikat air (hidrofil) sedangkan gugus nonpolar menghadap ke dalam karena takut dengan air (hidrofob). Keadaan ini yang tampak seperti busa, dari sifat itulah uji adanya saponin dalam sampel dilakukan dengan melihat kemampuan sampel dalam membentuk busa/buih. Saponin memiliki efek mengurangi resiko aterosklerosis karena kemampuannya dalam mengikat kolesterol. Saponin juga berkhasiat sebagai antimikroba dan obat luar karena dapat menghentikan darah pada kulit (Agustina, S., Ruslan, R., & Wiraningtyas, 2016).

Tabel 4.8.Hasil Kandungan Alkaloid

No	Pustaka (Pardede dkk, 2013)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Endapan Kuning	(Buah Maja) Terbentuk Endapan Kuning	+	
	Endapan Coklat	(Buah Maja) Terbentuk Endapan Coklat	+	
2	Endapan Kuning	(Kulit Maja) Terbentuk Endapan Kuning	+	
	Endapan Coklat	(Kulit Maja) Kuning Kecoklatan	+	
3	Endapan Kuning	(Daun Maja) Endapan Hitam	-	
	Endapan Coklat	(Daun Maja) Terbentuk Endapan Coklat Kehitaman	+	







Keterangan :

(+) = Positif mengandung senyawa alkaloid

(-) = Tidak mengandung senyawa alkaloid

Tabel 4.8 menunjukkan bahwa sampel yang positif mengandung senyawa alkaloid terdapat pada ekstrak buah, kulit dan daun maja. Namun pada daun maja dengan pereaksi reagen mayer didapatkan hasil negatif. Pereaksi mayer mengandung kalium iodida dan merkuri (II) klorida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Pada uji alkaloid dengan pereaksi mayer akan terjadi reaksi antara nitrogen dengan ion kalium (K^+) membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap. Pada pereaksi bouchardat, timbul endapan dan terjadi perubahan warna menjadi kuning kecoklatan sehingga hasilnya positif. Senyawa alkaloid memiliki efek berupa pemicu sistem syaraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung, dan diabetes (Agustina, S., Ruslan, R., & Wiraningtyas, 2016).

Tabel 4.9.Hasil Kandungan Tanin

No	Pustaka (Marlinda dkk, 2012)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Biru-Hitam	(Buah Maja) Biru Kehitaman	+	
	Endapan Putih	(Buah Maja) Endapan Coklat	-	
2	Biru-Hitam	(Kulit Maja) Coklat Kehitaman	+	
	Terbentuk Endapan	(Kulit Maja) Tidak Terbentuk Endapan	-	
3	Biru-Hitam	(Daun Maja) Hitam Kehijauan	+	
	Terbentuk Endapan	(Daun Maja) Terbentuk Endapan Coklat	-	




Keterangan :

(+) = Positif mengandung alkaloid

(-) = Tidak mengandung alkaloid

Tabel 4.9 menunjukkan dari sampel buah, kulit, dan daun maja mengandung senyawa tanin dengan pereaksi FeCl_3 sedangkan dari larutan gelatin 1% memberikan hasil negatif. Pada uji ini digunakan pereaksi FeCl_3 dan larutan gelatin 1% untuk mengidentifikasi adanya tanin dalam sampel. Perubahan warna menjadi hijau kehitaman terjadi akibat pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan FeCl_3 (Agustina, S., Ruslan, R., & Wiraningtyas, 2016). Salah satu sifat khas senyawa tanin adalah mempunyai kemampuan untuk mengendapkan protein, pada uji ini dikatakan positif apabila terbentuk endapan setelah penambahan gelatin (protein) pada larutan ekstrak (Riza, A., & Hari., S, 2012).

Tabel 4.10. Hasil Kandungan Minyak Atsiri

No	Pustaka	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Jingga-Merah	(Buah Maja) Ungu	-	
2	Jingga-Merah	(Kulit Maja) Ungu	-	
3	Jingga-Merah	(Daun Maja) Ungu	-	




Keterangan :

(+) = Positif mengandung minyak atsiri

(-) = Tidak mengandung minyak atsiri

Tabel 4.10 menunjukkan bahwa dari ketiga sampel, baik ekstrak buah, kulit, dan daun maja tidak mengandung minyak atsiri. Pereaksi yang digunakan yaitu Sudan III dan etanol 90%. Komposisi dari larutan pereaksi Sudan III meliputi 100mg Sudan III P yang ditambahkan dengan 10 ml etanol (96%) P dan 10 ml gliserol P. Dari hasil penambahan Sudan III, jika terbentuk warna jingga-merah maka menandakan positif mengandung minyak atsiri.

Tabel 4.11.Hasil Kandungan Protein

No	Pustaka (Purnama <i>et al.</i> , 2019)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Ungu – Biru Violet	(Buah Maja) Biru Kehitaman	+	
2	Ungu – Biru Violet	(Kulit Maja) Kuning Kecoklatan	-	
3	Ungu – Biru Violet	(Daun Maja) Kuning Kehijauan	-	

Keterangan :

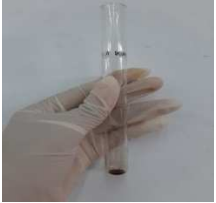




(+) = Positif mengandung protein

(-) = Tidak mengandung protein


Tabel 4.11 menunjukkan sampel yang positif mengandung protein terdapat pada buah maja, yakni ditandai dengan perubahan warna ungu-biru violet. Identifikasi kualitatif ini dengan menggunakan metode biuret. Uji ini untuk menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang mengandung gugus amida asam yang berada bersama gugus amida yang lain. Uji ini

memberikan reaksi positif yaitu ditandai dengan timbulnya warna ungu atau biru violet (Purnama *et al.*, 2019).

Tabel 4.12.Hasil Kandungan Karbohidrat

No	Pustaka (Banu & Cathrine , 2015)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Orange Kemerahan	(Buah Maja) Hijau	-	
	Merah Bata	(Buah Maja) Hijau Kehitaman	-	
2	Orange Kemerahan	(Kulit Maja) Coklat	-	
	Merah Bata	(Kulit Maja) Merah	+	
3	Orange Kemerahan	(Daun Maja) Orange Kehijuan	+	

Lanjutan Tabel 4.12. Hasil Kandungan Karbohidrat

Merah Bata	(Daun Maja) Coklat Kehijauan	-	
------------	------------------------------------	---	---




Keterangan :

(+) = Positif mengandung karbohidrat

(-) = Tidak mengandung karbohidrat

Dilihat dari reaksi kimia yang terjadi pada pengujian karbohidrat dengan pereaksi Fehling A dan B menunjukkan tidak terjadi reduksi yang membuat terbentuknya endapan kupro oksida menjadi warna merah bata pada ekstrak buah dan daun maja. Sedangkan pengujian karbohidrat dengan pereaksi benedict menunjukkan bahwa sampel yang positif terdapat pada daun maja. Pada uji benedict presipitat warna orange kemerahan karakteristik menunjukkan adanya gula pereduksi (Banu & Cathrine, 2015). Pada uji Fehling, pereaksi Fehling A dan Fehling B dalam jumlah yang sama banyak kedalam larutan uji, lalu akan terjadi reduksi menghasilkan endapan kupro oksida berwarna merah bata (Hanani, 2017).

Tabel 4.13. Hasil Kandungan Gula Pereduksi

No	Pustaka (Kusbandari, 2015)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Endapan Merah Bata	(Buah Maja) Endapan Hijau Kekuningan	-	
2	Endapan Merah Bata	(Kulit Maja) Endapan Merah Bata	+	
3	Endapan Merah Bata	(Daun Maja) Endapan Merah Bata	+	

Keterangan :




(+) = Positif mengandung gula pereduksi

(-) = Tidak mengandung gula pereduksi

Tabel 4.13 menunjukkan bahwa dari sampel kulit dan daun maja positif mengandung gula pereduksi. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata. Pereaksi benedict yang digunakan bertujuan untuk mengetahui adanya gula pereduksi dalam larutan sampel. Prinsip dari uji ini adalah gugus aldehid atau keton bebas pada gula reduksi yang terkandung dalam sampel mereduksi ion Cu^{2+} dari $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam suasana alkalis menjadi Cu^{2+} yang mengendap

menjadi Cu_2O . Suasana alkalis diperoleh dari Na_2CO_3 dan Na sitrat yang terdapat pada reagen benedict. Semakin berwarna merah bata maka gula reduksinya semakin banyak (Kusbandari, 2015).

Tabel 4.14. Hasil Kandungan Vitamin A

No	Pustaka (Sari <i>et al.</i> , 2019)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Biru Tua	(Buah Maja) Biru Kecoklatan	+	
2	Biru Tua	(Kulit Maja) Putih Kecoklatan	-	
3	Biru Tua	(Daun Maja) Hijau Kebiruan	+	

Keterangan :




(+) = Positif mengandung Vitamin A

(-) = Tidak mengandung Vitamin A

Tabel 4.14 menunjukkan sampel yang mengandung vitamin A terdapat pada buah dan daun maja. Pada pengujian analisis kualitatif menggunakan ekstrak buah, kulit, dan daun maja direaksikan dengan

pelarut non polar (kloroform) tambahkan asam asetat kemudian ditambahkan dengan $SbCl_3$. Vitamin A bersifat polar akan larut dalam kloroform yang bersifat non polar. Ketika vitamin A bereaksi dengan $SbCl_3$ akan mengalami pengurangan electron sehingga menjadi lebih kompleks dengan hilangnya gugus hidroksil, dan gugus hidroksil bereaksi dengan gugus $SbCl_3$ sehingga menjadi $SbCl_3OH$. Dengan adanya $SbCl_3$ akan menyebabkan reaksi adisi dimana reaksi adisi adalah reaksi penggabungan dua atau lebih suatu produk tunggal yang ditandai dengan hilangnya ikatan rangkap. Vitamin A akan pecah menjadi retinol dan asam lemah sehingga dapat bereaksi, lalu penambahan asam asetat ninhidrin untuk memberikan reaksi warna pada vitamin A dan Kristal $SbCl_3$ yang didalamnya terdapat kepingan atau Kristal kuning pucat sehingga menghasilkan warna biru tua (Oyetade, 2012).

Tabel 4.15.Hasil Kandungan Vitamin C

No	Pustaka (Mulyani, 2018)	Hasil Pengamatan	Keterangan	Gambar
1	Kecoklatan kemudian perlahan- lahan menghilang	(Buah Maja) Coklat perlahan-lahan menghilang	+	
2	Kecoklatan kemudian perlahan- lahan menghilang	(Kulit Maja) Coklat perlahan-lahan menghilang	+	
3	Kecoklatan kemudian perlahan- lahan menghilang	(Daun Maja) Coklat perlahan-lahan menghilang	+	

Keterangan :

(+) = Positif mengandung Vitamin C

(-) = Tidak mengandung Vitamin C

Tabel 4.15 menunjukkan ekstrak buah, kulit, dan daun maja positif mengandung vitamin C. Reaksi antara kalium permanganat ($KMnO_4$) dengan vitamin C, yang berfungsi sebagai reduktor adalah vitamin C, artinya vitamin C dalam reaksi sebagai zat yang mengalami oksidasi. Sedangkan kalium permanganat ($KMnO_4$) adalah zat yang mengalami

reduksi, artinya KmnO_4 dalam reaksi ini berfungsi sebagai oksidator dan yang berfungsi sebagai reduktor adalah vitamin C. Kalium permanganat (KmnO_4) dapat direduksi oleh asam askorbat (vitamin C) sehingga ion permanganat (MnO_4^-) yang mempunyai warna ungu berubah menjadi endapan coklat menunjukkan terbentuknya ion mangan (Mn^{2+}). Sedangkan asam askorbat (vitamin C) dioksidasi permanganat menjadi asam dihidroaskorba.

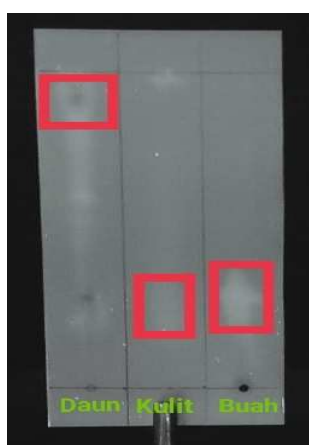
Tabel perbandingan uji metabolit sekunder ekstrak buah, kulit, dan daun maja :

No.	Pemeriksaan Metabolit Sekunder	Ekstrak Buah Maja	Ekstrak Kulit Maja	Ekstrak Daun Maja
1.	Saponin	+	-	+
2.	Flavonoid	+	-	+
3.	Tanin (FeCl_3 5%)	+	+	+
4.	Tanin (Larutan Gelatin 1%)	-	-	-
5.	Minyak Atsiri	-	-	-
6.	Alkaloid (Mayer)	+	+	-
7.	Alkaloid (Bouchardat)	+	+	+
8.	Karbohidrat (Benedict)	-	-	+
9.	Karbohidrat (Fehling)	-	+	-
10.	Gula Pereduksi	-	+	+
11.	Vitamin A	+	-	+
12.	Vitamin C	+	+	+
13.	Protein	+	-	-

4.5 Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis

Kadar flavonoid ekstrak maserasi buah, kulit, dan daun maja juga diukur dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), untuk memastikan bahwa ekstrak yang diperoleh mengandung senyawa flavonoid sebagai antioksidan. Metode ini digunakan karena perlengkapannya yang sederhana, memerlukan bahan yang sedikit, diperoleh pemisahan yang baik, dan membutuhkan waktu yang singkat untuk pengerjaannya (Era Sandhi Kusuma Yuda, 2017). Fase gerak yang digunakan dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah n-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4 : 1 : 5. Fase diam yang digunakan berupa silica gel berukuran 8 x 10 cm yang telah di oven selama 3 menit pada suhu 45⁰C, tujuannya untuk mengurangi kadar air dan mengaktifkan plat KLT agar pada saat proses elusi lempeng silica gel dapat menyerap dan berikatan dengan sampel. Penotolan pada plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yaitu menggunakan pipa kapiler dilakukan 1 cm dari batas atas dan batas bawah untuk mempermudah penotolan dan mengetahui jarak pelarut yang ditempuh sehingga mempermudah dalam perhitungan. Setelah dilakukan penotolan kemudian dielusi menggunakan fase gerak yang sebelumnya telah dilakukan proses penjenjuran pada chamber bertujuan mempercepat proses elusi. Proses elusi pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan sampai tanda batas rambat yang telah ditandai. Plat yang telah dielusi kemudian dikeringkan dengan cara didiamkan. Setelah selesai kemudian plat kromatografi lapis tipis (KLT) dianalisis dengan

menggunakan alat lampu sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm. Bercak yang diperoleh ditandai dengan pensil. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan KLT terlihat bercak pada plat KLT sehingga diperoleh nilai Rf dan hRf. Berikut adalah hasil Rf dan hRf senyawa flavonoid.



Gambar 4.1. Uji Kromatografi Lapis Tipis Pada Sinar UV 254 nm

Tabel 4.16. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sampel	Sampel		Standart (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008)	
	Rf	hRf	Rf	hRf
Ekstrak Buah Maja	0,3030			
Ekstrak Kulit Maja	0,27	27	0,65	65
Ekstrak Daun Maja	0,9393			

Nilai Rf standart menurut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2008) yaitu 0,65. Dari hasil identifikasi KLT ekstrak buah, kulit, dan daun maja diperoleh nilai Rf berturut-turut sebesar 0,30, 0,27, dan 0,93. Perbedaan nilai Rf dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pelarut atau fase gerak, tingkat kejenuhan bejana kromatografi, jumlah fase gerak yang digunakan, suhu, keseimbangan, dan penotolan sampel (Era Sandhi Kusuma Yuda, 2017).

4.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan DPPH (*2,2-difenil-pikrilhidrazil*). Aktivitas antioksidan ditentukan dari kemampuan sampel uji untuk merubah warna ungu dari DPPH menjadi warna kuning pada panjang gelombang maksimalnya. Metode DPPH dipilih karena metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, efektif dan praktis (Yuswantina, 2009). 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 penghambatan radikal DPPH (persen inhibisi). Dari persen inhibisi dapat ditentukan nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*). Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi yang mampu menghambat radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai

IC₅₀ berarti semakin tinggi nilai antioksidannya. Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi linier.

4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang

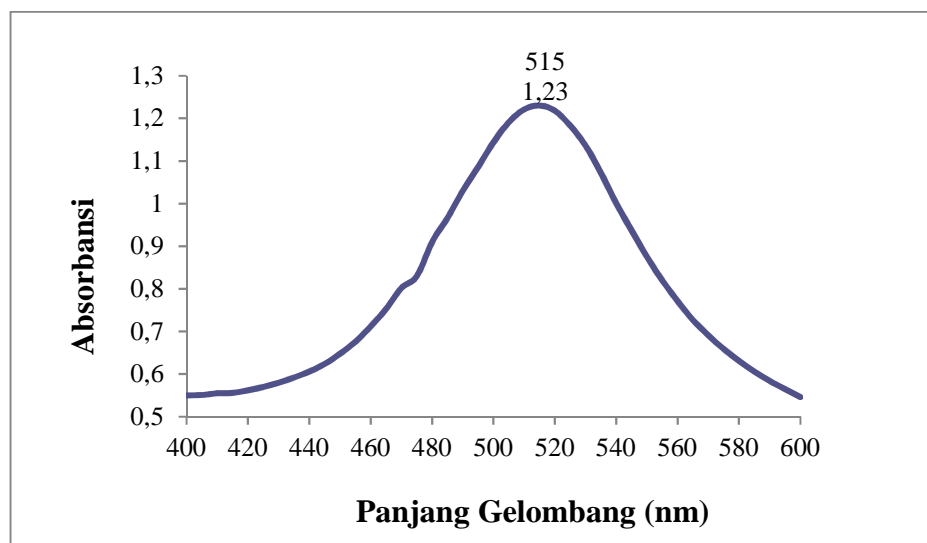
Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui ketika absorbansi mencapai puncaknya maka absorbansinya pun mencapai maksimum sehingga meningkatkan proses absorbansi larutan terhadap sinar. Penentuan panjang gelombang yang digunakan yaitu 400 nm – 600 nm (Khasanah *et al.*, 2014).

Tabel 4.17. Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Panjang Gelombang	Absorbansi
400	0.55
405	0.551
410	0.555
415	0.556
420	0.562
425	0.57
430	0.58
435	0.592
440	0.606
445	0.624
450	0.648
455	0.676
460	0.712
465	0.753
470	0.802
475	0.83
480	0.91
485	0.966
490	1.03
495	1.086
500	1.144
505	1.191
510	1.221
515	1.231 maks
520	1.218
525	1.183
530	1.136

535	1.072
540	1.001
545	0.937
550	0.876
555	0.82
560	0.771
565	0.727
570	0.691
575	0.659
580	0.631
585	0.606
590	0.584
595	0.565
600	0.546

Berdasarkan hasil panjang gelombang maksimal yang didapat adalah 515 nm digunakan untuk pengukuran selanjutnya. Alasan digunakan panjang gelombang maksimum dalam pengujian dengan spektrofotometri UV-Vis yaitu panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar. Panjang gelombang maksimum sendiri dicari untuk mengetahui seberapa besar energi cahaya tertinggi yang diserap oleh larutan (Agustina, Handayani, & Nurhamidah, 2017).



Gambar 4.2.Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal

Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dapat dilakukan pada panjang gelombang 515 nm dengan konsentrasi DPPH 100 ppm. Antioksidan standar asam askorbat digunakan sebagai pembanding dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 40, dan 80 ppm. Setelah didapatkan absorbansi masing-masing konsentrasi kemudian menghitung % inhibisinya. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan prosentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. Persen inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

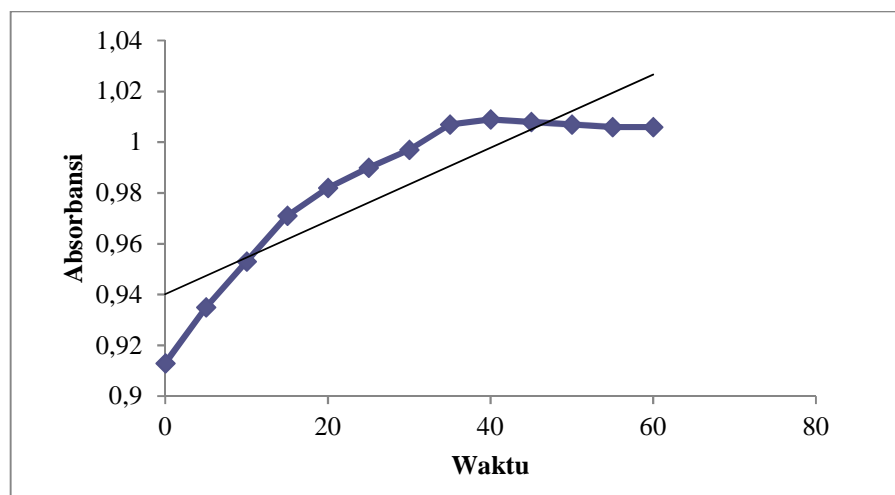
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

4.7 Penentuan *Operating Time*

Penentuan operating time dilakukan dengan cara mereaksikan 50 μ l baku pembanding vitamin C ditambah 4,0 ml larutan DPPH 0,1 mM, dihomogenkan dengan stirer selama 1 menit dan diukur absorbansinya pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 pada λ gelombang maksimal yang sudah diperoleh (Nugraheni, 2007).

Tabel 4.18. Penentuan Operating Time

Menit	Absorbansi
0	0,913
5	0,935
10	0,953
15	0,971
20	0,982
25	0,990
30	0,997
35	1,007
40	1,009
45	1,008
50	1,007
55	1,006
60	1,006



Gambar 4.3. Pengukuran *Operating Time*

Gambar 4.3 menunjukkan pengukuran operating time dimulai dari menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 diperoleh absorbansi maksimal pada menit ke 40 yaitu dengan absorbansi 1,009.

4.8 Penentuan Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Penentuan aktivitas dilakukan untuk mengetahui nilai absorbansi, % inhibisi, probit dan IC_{50} dari vitamin C.

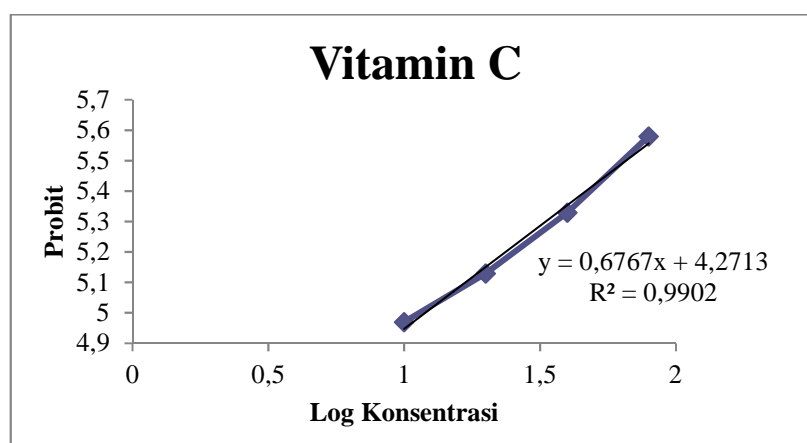
Tabel 4.19 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Sampel	Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi
Vitamin C	10	0,265	49,03
	20	0,232	55,38
	40	0,190	63,46
	80	0,145	72,11

Tabel 4.19 menunjukkan semakin tinggi konsentrasi vitamin C maka nilai % inhibisinya juga semakin meningkat. Nilai IC_{50} ditentukan dengan analisa probit dari data log konsentrasi dengan % inhibisi. Data % inhibisi diplotkan ke tabel probit untuk memperoleh nilai probit, kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi (x) dan probit (y) sehingga memperoleh persamaan linier = $ax + b$. Data hasil probit inhibisi, persamaan linier, dan nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.20. Aktivitas Antioksidan Vitamin C Dalam Bentuk Probit

Sampel	Log Konsentrasi	Probit % Inhibisi	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	1	4,97	$Y = 0,676x + 4,271$ $R^2 = 0,990$	11,978
	1,3	5,13		
	1,6	5,33		
	1,9	5,58		

**Gambar 4.4.** Hubungan Antara Log Konsentrasi Dengan Probit % Inhibisi

4.9 Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel

Penentuan aktivitas dilakukan untuk mengetahui nilai absorbansi, % inhibisi, probit dan IC₅₀ dari ekstrak buah, kulit, dan daun maja.

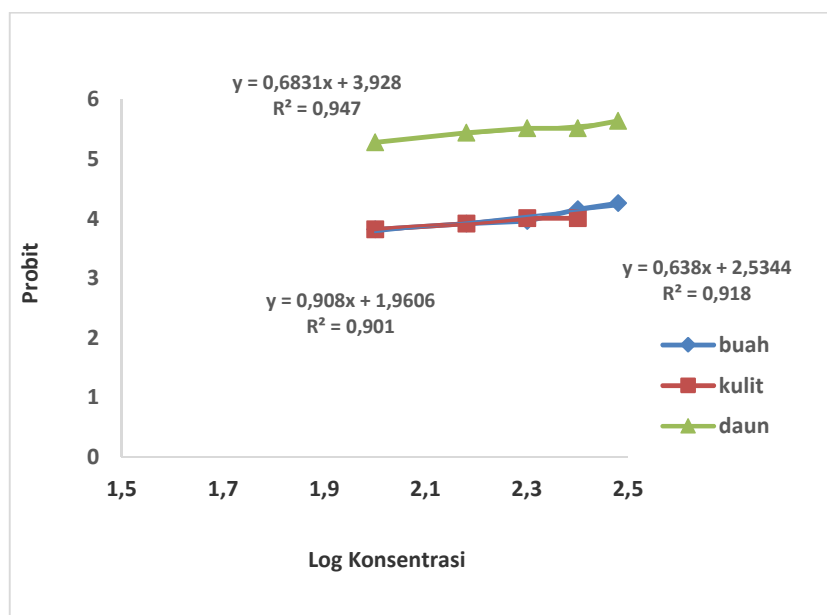
Tabel 4.21. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah, Kulit Dan Daun Maja

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi
Ekstrak Buah Maja	100	0,688	11,714
	150	0,674	13,596
	200	0,662	15,049
	250	0,620	20,436
	300	0,598	23,258
Ekstrak Kulit Maja	100	0,705	11,696
	150	0,684	14,327
	200	0,672	15,748
	250	0,670	16,082
	300	0,639	19,883
Ekstrak Daun Maja	100	0,423	60,590
	150	0,349	67,453
	200	0,325	69,689
	250	0,317	70,434
	300	0,274	74,472

Tabel 4.21 menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah maja maka nilai % inhibisinya juga semakin meningkat. Nilai IC_{50} ditentukan dengan analisa probit dari data log konsentrasi dengan % inhibisi. Data % inhibisi di plotkan ke tabel probit untuk memperoleh nilai probit, kemudian dibuat grafik antara log konsentrasi (x) dan probit (y) sehingga memperoleh persamaan linier $y = ax + b$. Data hasil probit inhibisi, persamaan linier, dan nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.22. Antioksidan Ekstrak Buah, Kulit, Dan Daun Maja

Sampel	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀
Ekstrak Buah Maja	$Y = 0,908x + 1,960$ $R^2 = 0,901$	2897,3434
Ekstrak Kulit Maja	$Y = 0,638x + 2,534$ $R^2 = 0,918$	7321,49
Ekstrak Daun Maja	$Y = 0,683x + 3,928$ $R^2 = 0,947$	37,0937

**Gambar 4.5.** Hubungan Antara Log Konsentrasi Dengan Probit % Inhibisi

Ekstrak Buah, Kulit, Dan Daun Meja

Hasil Penelitian pada ekstrak buah maja diperoleh nilai $R^2 = 0,901$ dan ekstrak kulit maja diperoleh nilai $R^2 = 0,918$ sedangkan pada ekstrak daun maja diperoleh nilai $R^2 = 0,947$. Nilai R^2 (koefisien korelasi) menunjukkan adanya hubungan linearitas antara probit dan log konsentrasi. Berdasarkan literatur, nilai R^2 yang mendekati 1 menandakan data yang diperoleh sangat baik (Hastono & Sabri, 2011).

Nilai IC_{50} menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (symbol x) dengan aktivitas radikal bebas (symbol y) dari seri replikasi pengukuran. Untuk mendapatkan hasil yang baik, maka pada penelitian ini menggunakan probit. Nilai IC_{50} ditentukan dengan analisis probit yang diperoleh dari konversi % inhibisi kedalam nilai probit, sedangkan nilai konsentrasi diubah kedalam nilai log konsentrasi. Nilai IC_{50} merupakan nilai antilog pada nilai probit 50.

Menurut (Molyneux, 2004) menyatakan bahwa, semakin kecil kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 ppm, antioksidan sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 ppm dan antioksidan lemah jika nilai IC_{50} bernilai 150-200 ppm, sedangkan apabila nilai IC_{50} berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah.

Tabel 4.23. Tingkat Kekuatan Antioksidan Dengan Metode DPPH
(Molyneux, 2004)

Intensitas	Nilai IC ₅₀ (μg/ml)
Sangat Kuat	50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	151-200
Sangat Lemah	>200

Suatu senyawa digolongkan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004).

Dalam penelitian ini hasil aktivitas antioksidan pada buah dan kulit maja sangat lemah. Sedangkan hasil dari antioksidan daun dikatakan kuat karena daun merupakan tempat metabolisme bagi sel tumbuhan. Umur daun juga dapat mempengaruhi senyawa antioksidan yang terkandung. Semakin tua umur daun maka semakin banyak pula kandungan antioksidan yang terdapat di dalamnya (Arianti, dkk 2007).

Daun menghasilkan kandungan karotenoid yang berpengaruh pada metabolisme tumbuhan melalui proses fotosintesis, sehingga daun lebih banyak mengandung antioksidan dibandingkan dengan buah dan kulitnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian, analisis data dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat kandungan metabolit sekunder pada buah, kulit, dan daun maja
2. Hasil antioksidan yang didapatkan pada ekstrak buah maja sebesar 2897,3434 ppm, sedangkan pada ekstrak kulit maja dihasilkan sebesar 7321,49 ppm, dan pada ekstrak daun maja didapatkan hasil sebesar 37,0937. Sehingga dari hasil tersebut, kandungan antioksidan paling baik terdapat pada ekstrak daun maja.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini yakni:

1. Penelitian tanaman maja yang telah dilakukan ini perlu dilakukan kembali untuk menggali manfaat dan kandungan-kandungan yang terdapat didalam tanaman, baik dari akar, batang, bunga dan lain sebagainya.
2. Mencoba melakukan penelitian kembali dengan metode ekstraksi yang berbeda supaya dapat mengetahui hasil dari perbedaan metode ekstraksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Ruslan, R., & Wiraningtyas, A. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 4(1), 71–76.
- Amelia. (2011). *Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia dari Daun Garcinia Benthami Piere* (Tesis). Universitas Indonesia, Depok.
- Amic, D., Amic, D. D., Beslo, D., & Nenad, T. (2003). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, 76(1), 55–61.
- 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.
- Arianti, Harsojo, Syafria, Y., & Ermayanti, T. M. (2007). Isolasi dan uji antibakteri batang sambung nyawa (*gynura procumbens* Lour) umur panen 1, 4, dan 7 bulan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6 (2).
- Banu, K. S., & Cathrine, L. (2015). General Techniques Involved in Phytochemical Analysis. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, 2(4), 25–32. www.arcjournals.org
- Bendra, A. (2012). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Premna oblongata Miq. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif*. (Skripsi-S1). Universitas Indonesia., Depok
- Chandra, B., Zulharmita, & Dian, P. W., (2019). Penetapan Kadar Vitamin C Dan B₁ Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus Lemairei* (Hook.) Britton & Rose) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasi Hygea*, 11(1).
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Era Sandhi Kusuma Yuda, P. (2007). *Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (Euphorbia hirta L.)*. Medicamento, 3.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., (2012). *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Hanani, E. (2017). Analisis Fitokimia. In *Buku Kedokteran EGC*.

- Hastono, S. P., & Sabri, L. (2011). Statistik kesehatan. In *Jakarta: Rajawali Pers*.
- Khasanah, I., Ulfah, M., & Sumantri. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil). *E-Publikasi Fakultas Farmasi, 11*(2), 9–17.
- Kuntorini, E. M., & Astuti, M. D. (2016). Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bulbus bawang dayak (*eleutherine americana merr*). *Jurnal Sains Dan Terapan Kimia, 4*(1), 15-22.
- Kusbandari, A. (2015). Analisis Kualitatif Kandungan Sakarida Dalam Tepung Dan Pati Umbi Ganyong (*Canna edulis Ker .*). *Jurnal Pharmacia, 5*(1), 35–42.
- Leha, D. (2017). Pengertian Dan Mekanisme Antioksidan. Retrieved from Biokimia website : <http://go-perikanan.blogspot.com/2017/06/pengertian-dan-mekanisme-antioksidan.html>.
- Lutfitasari, M. F. (2016). Analisa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cabai Merah (*Capsicum annum L.*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis (Karya Tulis Ilmiah). Politeknik Harapan Bersama Tegal, Tegal.
- Mailandari, M. (2012). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun garcinia kydia roxb dengan metode DPPH dan identifikasi senyawa kimia fraksi ekstrak yang aktif. (Skripsi), Universitas Indonesia, Depok.
- Mardiana, Prasetyani P., Yunita, Herwidiani S., 2015. Analisis Kadar Vitamin C Pada Buah Nanas Segar (*Ananas comosus (L.) Merr*) dan Buah Nanas Kaleng Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Wiyata, 2* (1).
- Marzouk, M.M. (2016). Flavonoid Constituents And Cytotoxic Activity Of *Erucaria Hispanica (L.) Druce* Growing Wild In Egypt. *Arabian Journal Of Chemistry, 9*, 411-415.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science Technology, 26*(2), 211-219.
- Mulyani, E. (2018). Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Vitamin C pada Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*) dengan Menggunakan Metode Iodimetri dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan, 3*(2), 14–17.
- Nigam, V., dan V.S. Nambiar. 2015. Therapeutic Potential Of *Aegle marmelos (L.) Correa* Leaves As An Antioxidant And Antidiabetic Agents : A

- Review. *International Journal of Pharma Sciences and Research*. Vol. 6 (3) : 611-621.
- Novitasari, A.E. dan D.Z. Putri. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*. 6 (12) :10-14
- Nugraha, Arde T., Firmansyah, Muhammad S., Jumaryanto, Pinus. 2017. Profil Senyawa Dan Aktivitas Antioksidan Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) Dengan Metode DPPH Dan CUPRAC. *Jurnal Ilmiah*. 13 (1), 14-20.
- Nugraheni, 2007, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sunchus arvensis L.*) serta Penentuan EC₅₀ dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), *Skripsi*, 36-39, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang.
- Nurchayati, S. 2008. *Efektivitas Ekstrak Daun Mojo (aegle marmelos L.) Terhadap Kematian Larva Nyamuk Aedes Aegypti Instar III*. Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhamadiyah Surakarta. Surakarta.
- O. A. Oyetade. (2012). Stability Studies on Ascorbic Acid (vitamin C) from Different Sources. Volume 2 Nigeria : Osun State Polytechnic.
- Paramita, N. L. P. V., Andani, N. M. D., Putri, I. A. P. Y., Indriyani, N. K. S., & Susanti, N. M. P., 2019. Karakteristik Simplisia Teh Hitam Dari Tanaman *Camelia sinensis* Varr. Assamica Dari Perkebunan Teh Bali Cahaya Amerta, Desa Angseri, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan, Bali. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 13 (1), 58-66.
- Patel AR, Garach D, Chakraborty M, & Kamath JV 2012. *Aegle marmelos* (Linn.): A therapeutic boon for human health. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 3 (2), 159-163.
- Patil SV, Patil CD, Salunkhe RB, & Salunke, B. K. (2010). Larvicidal activities of six plants extract against two mosquito species, *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Tropical Biomedicine*.
- Purnama, R. C., Winahyu, D. A., & Sari, D. S. (2019). Analisis Kadar Protein Pada Tepung Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata balbisiana colla*) Dengan Metode Kjeldahl. *Jurnal Analisis Farmasi*, 4(2), 77-83.

- Rai Widarta, I. W., & Arnata, I. W. (2014). Stabilitas Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul Beras Merah Terhadap Oksidator Dan Pemanasan Pada Berbagai pH. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 25(2), 193–199.
- Ratnayani, K., Mayun Laksmiwati, A., & Indah Septian P., N. (2012). Kadar Total Senyawa Fenolat Pada Madu Randu Dan Madu Kelengkeng Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Dengan Metode Dpph (Difenilpikril Hidrazil). *Jurnal Kimia*, 6(2), 163–168.
- Rismayani. (2013). Manfaat Buah Maja sebagai Pestisida Nabati untuk Hama Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha cramerella*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 19 (3) : 24-26.
- Rohmatussolihat. (2009). *Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia*. Bio Trends.
- Sari, N. P., Jamaluddin, J., & Widodo, A. (2019). Vitamin A Ikan Sidat (*Anguilla Bicolor*) Asal Danau Poso Sulawesi Tengah. *Ghidza: Jurnal Gizi Dan Kesehatan*, 3(2), 62–66.
- Sridhar, N., Raghavendra, M., Prasad, M.N.V., Kiran, B.V.V.S.S., Kanthal, L.K., 2014, *Screening the fruits of Aegle marmelos for antibacterial, Anthelmintic and Cardioptonic Properties*. *International Journal of Pharma Research & Review*, 3, 48-55
- Wang, Q., Jin, J., Dai, N., Han, N., Han, J., & Bao, B. (2016). ScienceDirect Anti-inflammatory effects , nuclear magnetic resonance identification , and high-performance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigida*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(2), 385–391.
- Widjaya, A. (2012). *Uji Antifertilitas Ekstrak Etanol 70% Biji Delima (Punica granatum L) Pada Tikus Jantan Strain Sprague-Dawley Secara In Vitro*. November, 89.
- Widodo, Rikli. (2015). *Perbandingan Antioksidan Pada Daun Manggis*. 1, 13
- Yuswantina, R. (2009). *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Rhizoma Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) Dengan Metode DPPH*. Fakultas Farmasi, UMY., Surakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Perhitungan Rendemen

1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Buah Maja

- Berat sampel = 10 gram (x)
- Berat cawan kosong = 55,75 gram (a)
- Berat cawan + isi = 81,99 gram (b)
- Berat Ekstrak = b - a
= 60,60gram - 55,75 gram
= 4,85 gram (y)
- Rendemen Ekstrak = $\frac{y}{x} \times 100\%$
= $\frac{4,85 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\%$
= 48,5%

2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kulit Maja

- Berat sampel = 10 gram (x)
- Berat cawan kosong = 72,95 gram (a)
- Berat cawan + isi = 81,99 gram (b)
- Berat ekstrak = b - a
= 81,99 gram - 72,95 gram
= 9,04 gram (y)

- Rendemen ekstrak $= \frac{y}{x} \times 100\%$
 $= \frac{9,04 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\%$
 $= 90,4\%$

3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Maja

- Berat sampel $= 10 \text{ gram (x)}$
- Berat cawan kosong $= 55,77 \text{ gram (a)}$
- Berat cawan + isi $= 59,05 \text{ gram (b)}$
- Berat ekstrak $= b - a$
 $= 59,05 \text{ gram} - 55,77 \text{ gram}$
 $= 3,28 \text{ gram (y)}$
- Rendemen ekstrak $= \frac{y}{x} \times 100\%$
 $= \frac{3,28 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\%$
 $= 32,8\%$

Lampiran 2

Perhitungan Fase Gerak Dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1. Perhitungan Fase Gerak

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

a. N-butanol

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan untuk 10 ml} &= \frac{4}{10} \times 10 \text{ ml} \\ &= 4 \text{ ml}\end{aligned}$$

b. Asam Asetat

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan untuk 10 ml} &= \frac{1}{10} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml}\end{aligned}$$

c. Air

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan untuk 10 ml} &= \frac{5}{10} \times 10 \text{ ml} \\ &= 5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Lampiran 3

Pembuatan Larutan Seri

1. Pembuatan Larutan Seri Vitamin C (10, 20, 40, dan 80 ppm)

Keterangan :

V_1 = Volume yang dibutuhkan

V_2 = Volume larutan yang dibuat

N_1 = Konsentrasi larutan induk

N_2 = Konsentrasi pengenceran

$$10 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 10 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{100}{1000} = 0,1 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$20 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 20 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{200}{1000} = 0,2 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$40 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100 = 40 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{400}{1000} = 0,4 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$80 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 80 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{800}{1000} = 0,8 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

2. Pembuatan Larutan Seri Ekstrak Buah, Kulit, dan Daun Maja (100, 150, 200, 250, dan 300 ppm).

V_1 = Volume yang dibutuhkan

V_2 = Volume larutan yang dibuat

N_1 = Konsentrasi larutan induk

N_2 = Konsentrasi pengenceran

$$100 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 100 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1000}{1000} = 1 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$150 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 150 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1500}{1000} = 1,5 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$200 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 200 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2000}{1000} = 2 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$250 \text{ ppm} \implies V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 250 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2500}{1000} = 2,5 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$300 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 300 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{3000}{1000} = 3 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

Lampiran 4

Data Absorbansi Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah, Kulit, Dan Daun Maja

1. Hasil Absorbansi Ekstrak Buah Maja

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
100	0,688	0,688	0,689	0,688
150	0,673	0,673	0,675	0,674
200	0,664	0,662	0,661	0,662
250	0,621	0,620	0,620	0,620
300	0,60	0,598	0,597	0,598

2. Hasil Absorbansi Ekstrak Kulit Maja

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
100	0,707	0,704	0,703	0,705
150	0,685	0,684	0,682	0,684
200	0,674	0,672	0,671	0,672
250	0,670	0,670	0,669	0,670
300	0,641	0,639	0,638	0,639

3. Hasil Absorbansi Ekstrak Daun Maja

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
100	0,420	0,423	0,426	0,423
150	0,347	0,350	0,351	0,349
200	0,326	0,325	0,325	0,325
250	0,317	0,317	0,318	0,318
300	0,271	0,274	0,277	0,277

Lampiran 5

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

1. Perhitungan %Inhibisi

a. Ekstrak Buah Maja

Perhitungan nilai %inhibisi :

$$\begin{aligned}
 100 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata larutan kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,780 - 0,688}{0,780} \times 100\% \\
 &= 11,714\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 150 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,780 - 0,674}{0,780} \times 100\% \\
 &= 13,596\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 200 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,780 - 0,662}{0,780} \times 100\% \\
 &= 15,049\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 250 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,780 - 0,620}{0,780} \times 100\% \\
 &= 20,436\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 300 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,780 - 0,598}{0,780} \times 100\% \\
 &= 23,258\%
 \end{aligned}$$

b. Ekstrak Kulit Maja

Perhitungan nilai %inhibisi :

$$\begin{aligned}
 100 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,798 - 0,705}{0,798} \times 100\% \\
 &= 11,696\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 150 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,798 - 0,684}{0,798} \times 100\% \\
 &= 14,327\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 200 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,798 - 0,672}{0,798} \times 100\% \\
 &= 15,748\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 250 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,798 - 0,670}{0,798} \times 100\% \\
 &= 16,082\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 300 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,798 - 0,639}{0,798} \times 100\% \\
 &= 19,883\%
 \end{aligned}$$

c. Ekstrak Daun Maja

Perhitungan nilai %inhibisi :

$$\begin{aligned}
 100 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,073 - 0,423}{1,073} \times 100\% \\
 &= 60,5900\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 150 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,073 - 0,349}{1,073} \times 100\% \\
 &= 67,453\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 200 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,073 - 0,325}{1,073} \times 100\% \\
 &= 69,689\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 250 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,073 - 0,317}{1,073} \times 100\% \\
 &= 70,434\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 300 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,073 - 0,274}{1,073} \times 100\% \\
 &= 74,472\%
 \end{aligned}$$

d. Vitamin C

Perhitungan nilai %inhibisi :

$$\begin{aligned}
 10 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,520 - 0,265}{0,520} \times 100\% \\
 &= 49,03\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 20 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,520 - 0,232}{0,520} \times 100\% \\
 &= 55,38\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 40 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,520 - 0,190}{0,520} \times 100\% \\
 &= 63,46\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 80 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,520 - 0,145}{0,520} \times 100\% \\
 &= 72,11\%
 \end{aligned}$$

2. Perhitungan IC₅₀

$$\text{Rumus : } y = ax + b$$

a. Ekstrak Buah Maja

$$y = 0,9082x + 1,9606$$

$$5 = 0,9082x + 1,9606$$

$$5 - 1,9606 = 0,9082x$$

$$x = \frac{3,039}{0,9082}$$

$$\log C = 3,3462$$

$$C = \text{antilog } 3,3462$$

$$= 2897,3436 \mu\text{g/ml}$$

b. Ekstrak Kulit Maja

$$y = 0,638x + 2,5344$$

$$5 = 0,638x + 2,5344$$

$$5 - 2,5344 = 0,638x$$

$$x = \frac{2,4656}{0,638}$$

$$\log C = 3,8646$$

$$C = \text{antilog } 3,8646$$

$$= 7321,49 \mu\text{g/ml}$$

c. Ekstrak Daun Maja

$$y = 0,6831x + 3,928$$

$$5 = 0,6831x + 3,928$$

$$5 - 3,928 = 0,6831x$$

$$x = \frac{1,0720}{0,6831}$$

$$\log C = 1,5693$$

$$C = \text{antilog } 1,5693$$

$$= 37,0937 \mu\text{g/ml}$$

d. Vitamin C

$$Y = 0,6767x + 4,2713$$

$$5 = 0,6767x + 4,2713$$

$$5 - 4,2713 = 0,6767x$$




$$x = \frac{0,729}{0,676}$$





$$\log C = 1,0784$$

$$C = \text{antilog } 1,0784$$



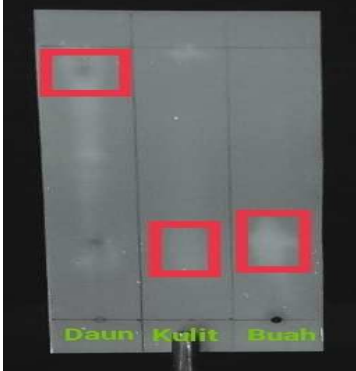
$$= 11,978 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 6
Ekstraksi




No.	Gambar	Keterangan
1.		Proses ekstraksi metode maserasi
2.		Berat cawan kosong ekstrak buah maja
3.		Berat cawan + isi ekstrak buah maja





4.		Berat cawan kosong ekstrak kulit maja
5.		Berat cawan + isi ekstrak kulit maja
6.		Berat cawan kosong ekstrak daun maja
7.		Berat cawan + isi ekstrak daun maja

Lampiran 7
Data Identifikasi KLT

No.	Gambar	Keterangan
1.		Proses penjuanan
2.		Menunggu hingga eluen naik
3.		Hasil KLT Ekstrak Daun, Kulit, dan Buah Maja

Lampiran 8
Data Uji Antioksidan

No.	Gambar	Keterangan
1.		Pembuatan blanko DPPH
2.		Pembuatan larutan pembanding vitamin C
3.		Proses inkubasi

4.		Larutan kadar seri ekstrak buah maja
5.		Larutan kadar seri ekstrak kulit maja
6.		Larutan kadar seri ekstrak daun maja
7.		Pembacaan absorbansi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis



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 : 003.06/FAR.PHB/II/2021
 Hal : Keterangan Praktek Laboratorium

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

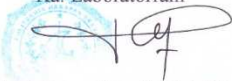
Nama : Dwi Rindi Atika
 NIM : 18080131
 Judul KTI : Perbandingan Uji Metabolit Sekunder pada Ekstrak Buah, Kulit dan Daun Maja dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

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

Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 2 Februari 2021
 Mengetahui,

Ketua Panitia KTI
PANITIA KTI
Diploma III FARMASI
 Politeknik Harapan Bersama
 Kusnadi, M.Pd
 NIPY. 04.015.217

Ka. Laboratorium

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

Curriculum Vitae



Nama : Dwi Rindi Atika
 NIM : 18080131
 Jenis Kelamin : Perempuan
 TTL : Banyumas, 23 April 2000
 Alamat : Kali epek-epek, Ciarus RT 03 RW 011, Kelurahan
 Randegan, Kecamatan Wangon, Kabupaten
 Banyumas.
 No. Telp/HP : 081226154180
 Riwayat Pendidikan
 SD : SD Negeri 02 Ciarus
 SMP : SMP Diponegoro 5 Wangon
 SMA/K SEDERAJAT : SMK Karya Teknologi 2 Jatilawang
 Diploma III : Politeknik Harapan Bersama Tegal
 Nama Ayah : Saryono
 Nama Ibu : Tarsinem
 Pekerjaan Ayah : Petani
 Pekerjaan Ibu : Buruh
 Judul Penelitian : PERBANDINGAN UJI METABOLIT
 SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
 PADA EKSTRAK BUAH, KULIT, DAN DAUN
 MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Correa).