

**EKSTRAKSI DAN UJI KANDUNGAN ANTIOKSIDAN
BUAH MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) DENGAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



TUGAS AKHIR

Oleh :

MUHAMMAD NUR FAUZI

18080165

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

2021

**EKSTRAKSI DAN UJI KANDUNGAN ANTIOKSIDAN
BUAH MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) DENGAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



TUGAS AKHIR

Ditujukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Dalam Mencapai Gelar

Ahli Madya Farmasi

Oleh :

MUHAMMAD NUR FAUZI

18080165

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

2021

HALAMAN PERSETUJUAN

**EKSTRAKSI DAN UJI KANDUNGAN ANTIOKSIDAN
BUAH MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) DENGAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Oleh :

MUHAMMAD NUR FAUZI

18080165

DIPERIKSA DAN DISETUJUI OLEH :

PEMBIMBING I



Aldi Budi Riyanta, S.Si, M.T
NIDN. 0602038701

PEMBIMBING II



Joko Santoso, M. Farm
NIDN. 0623109201

HALAMAN PENGESAHAN

Karya tulis ilmiah ini diajukan oleh :

NAMA : MUHAMMAD NUR FAUZI
NIM : 18080165
Jurusan / Program Studi : Diploma III FARMASI
Judul Tugas Akhir : EKSTRAKSI DAN UJI KANDUNGAN
ANTIOKSIDAN BUAH MAJA (Aegle marmelos
(L.) Corr.) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

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 Tegal.

TIM PENGUJI

Ketua Sidang : Wilda Amananti, S.Pd,M.Si (.....)
Penguji 1 : Joko Santoso, M.Farm (.....)
Penguji 2 : apt. Purgiyanti, S.Si,M.Farm (.....)

Tegal, 27 April 2021

Program Studi DIII Farmasi

Ketua Program Studi,



Sari Prabandari, S.Farm., M.M

NIPY. 08.01.223

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	MUHAMMAD NUR FAUZI
NIM	18080165
Tanda Tangan	
Tanggal	27 April 2021

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : MUHAMMAD NUR FAUZI
NIM : 18080165
Jurusan / Program Studi : Diploma III Farmasi
Jenis Karya : Tugas Akhir

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

EKSTRAKSI DAN UJI KANDUNGAN ANTIOKSIDAN BUAH MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat : Politeknik Harapan Bersama

Pada Tanggal : 27 April 2021

Yang menyatakan



(Muhammad Nur Fauzi)

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto :

- ⇒ Farmasi merupakan salah satu ilmu yang sulit dan luas, namun memiliki banyak manfaat bagi masyarakat.
- ⇒ Keberhasilan bukan hanya mereka yang berhasil mencapai suatu tujuan, tapi juga mereka yang kuat bertahan sampai akhir.
- ⇒ Pengalaman adalah ilmu yang paling berharga dan catatan paling penting dalam menginstropeksi diri.
- ⇒ Sabar ada dua macam yaitu sabar atas sesuatu yang tidak kau inginkan dan sabar menahan diri dari sesuatu yang kau inginkan

Kupersembahkan buat :

- ⇒ Kedua Orangtuaku
- ⇒ Keluargaku
- ⇒ Almamaterku
- ⇒ Dosen Pembimbing
- ⇒ Asisten Dosen
- ⇒ Tim *Aegle marmelos*
- ⇒ Teman-teman

PRAKATA

Segala puji syukur penulis panjatkan kebaikan Allah SWT, berkat rahmat dan karunia – Nya penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **“EKSTRAKSI DAN UJI KANDUNGAN ANTIOKSIDAN BUAH MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”**. Sebagai salah satu syarat mencapai gelar Ahli Madya di Prodi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.

Disadari ataupun tidak dalam penulisan Tugas Akhir ini penulis memperoleh banyak motivasi, dukungan dari ilmu yang sangat bermanfaat dan membantu penulis untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini. Ucapan terimakasih dan penghargaannya juga penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Nizar Suhendra, Amd, S.E, MPP selaku Direktur I Politeknik Harapan Bersama Tegal.
2. Ibu apt. Sari Prabandari, S.Farm., M.M selaku Ketua Program Studi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.
3. Bapak Aldi Budi R, S.Si., M.T selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu guna memberi pengarahan dan saran dalam menyusun Tugas Akhir ini.
4. Bapak Joko Santoso, M.Farm selaku dosen II yang telah memberikan bimbingan dan dorongan serta arahan.
5. Petugas Laboratorium Farmasi yang telah membantu dalam proses penelitian ini, terimakasih atas tenaga dan waktunya.

6. Para dosen dan staf karyawan Politeknik Harapan Bersama Tegal.
7. Ibu dan Bapak serta keluarga yang selama ini tak hentinya berdoa dan berkorban dengan kerja kerasnya untukku, terimakasih atas segalanya.
8. Sahabat-sahabat dan rekan-rekan kelas E atas bantuan, semangat, kebersamaan, dan kerjasamanya sehingga terciptanya cerita yang terangkai indah dan tak terlupakan.

Penulis menyadari dalam penyusunan Tugas Akhir ini banyak terdapat keterbatasan kemampuan, pengalaman dan pengetahuan sehingga dalam penyusunan Tugas Akhir ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membantu dan membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya besar harapan penulis semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat dan sumbangan bagi kemajuan dan perkembangan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang farmasi.

Tegal, 5 Februari 2021



(Muhammad Nur Fauzi)

INTISARI

Fauzi, Muhammad Nur., Budi R., Joko Santoso., 2021. Ekstraksi Dan Uji Kandungan Antioksidan Buah Maja (*Aegle Marmelos* (L.) Corr.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Tanaman maja atau disebut juga dengan moja, adalah sejenis tumbuhan subtropis yang mudah tumbuh dan berkembang di hampir seluruh wilayah di Indonesia. Buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr) diketahui mengandung metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr) yang bersifat sebagai antioksidan dan mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi diuapkan menggunakan waterbath sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang didapatkan di uji kualitatif dan uji aktivitas antioksidan dengan metode spektro UV-VIS menggunakan DPPH. Untuk mengetahui IC₅₀ digunakan analisis probit dan untuk mengetahui kandungan senyawa aktifnya dilakukan identifikasi dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr) mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin dan mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 269,153 µg/ml.

Kata Kunci : Buah Maja, Metabolit Sekunder, Antioksidan

ABSTRACT

Fauzi, Muhammad Nur., Budi R., Joko Santoso., 2021. *Extraction and Antioxidant Content Test of Maja Fruit (Aegle Marmelos (L.) Corr.) by using the UV-Vis Spectrophotometric Method*

Maja plants or also known as mojo, are a type of subtropical plant that is easy to grow and develop in almost all regions in Indonesia. Maja fruit (Aegle marmelos (L.) Corr) is known to contain secondary metabolites which have antioxidants. This study aimed to determine the content of secondary metabolites contained in maja fruit extract (Aegle marmelos (L.) Corr) which is an antioxidant and to determine the antioxidant activity found in maja fruit extract (Aegle marmelos (L.) Corr).

The extraction method used was maceration with 70% ethanol as a solvent. The results of maceration were evaporated by using a water bath until a thick extract is obtained. The extracts obtained were tested in qualitative and antioxidant activity tests with UV-VIS spectro method using DPPH. To determine IC50, a probit analysis was used and to determine the content of the active compound, identification was carried out with TLC (Thin Layer Chromatography).

The results showed that maja fruit extract (Aegle marmelos (L.) Corr) contained secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, tannins and had antioxidant activity with IC50 of 269.153 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

Keywords: *Maja Fruit, Secondary Metabolites, Antioxidants*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN	vii
PRAKATA	viii
INTISARI	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Keaslian Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Pustaka	7
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Maja.....	7
2.1.2 Morfologi	8

2.1.3 Kandungan	9
2.1.4 Manfaat	9
2.1.5 Simplisia	10
2.1.6 Ekstrak	12
2.1.7 Metode Ekstraksi	13
2.1.8 Flavonoid	14
2.1.9 Tanin	15
2.1.10 Kromatografi Lapis Tipis	17
2.1.11 Antioksidan	18
2.1.12 Mekanisme Antioksidan	20
2.1.13 DPPH	21
2.1.14 Spektrofotometri UV-Vis	23
2.2 Hipotesis	26
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1 Objek Penelitian	27
3.2 Sampel dan Teknik Sampling	27
3.3 Variabel Penelitian	27
3.3.1 Variabel Bebas	27
3.3.2 Variabel Terikat	28
3.3.3 Variabel Terkendali	28
3.4 Teknik Pengumpulan Data	28
3.4.1 Cara Pengumpulan Data	28
3.4.2 Alat dan Bahan	28
3.5 Cara Kerja	29
3.5.1 Pengumpulan Bahan	29
3.5.2 Prosentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah	29
3.5.3 Pembuatan Serbuk Buah Maja	31

3.5.4 Uji Serbuk Simplisia Buah Maja	31
3.5.5 Ekstraksi (Maserasi)	32
3.5.6 Perhitungan Rendamen	34
3.5.7 Uji Fitokimia.....	34
3.5.8 Kromatografi Lapis Tipis	39
3.5.9 Uji Kandungan Antioksidan dengan DPPH	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Persiapan Sampel	49
4.1.1 Uji Makroskopik.....	50
4.1.2 Uji Mikroskopik	51
4.2 Ekstrasi	52
4.3 Uji Flavonoid.....	53
4.4 Uji Alkaloid	54
4.5 Uji Tanin.....	56
4.6 Uji Saponin.....	57
4.7 Uji Glikosida	58
4.8 Kromatografi Lapis Tipis	60
4.9 Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah Maja	61
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	68
5.1 Kesimpulan.....	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69

DAFTAR GAMBAR

2.1 Tanaman Maja.....	7
2.2 Struktur Senyawa Flavonoid	14
2.3 Struktur Senyawa Tanin.....	16
2.4 Aktivitas Penangkap Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil.....	23
3.1 Skema Prosentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah	30
3.2 Skema Pembuatan Serbuk Buah Maja	31
3.3 Skema Uji Makroskopik Simplisia Buah Maja.....	31
3.4 Skema Uji Mikroskopik Simplisia Buah Maja	32
3.5 Skema Ekstrasi Maserasi Buah Maja.....	33
3.6 Skema Uji Flavonoid Buah Maja.....	35
3.7 Skema Uji Alkaloid Buah Maja	36
3.8 Skema Uji Tanin I Buah Maja	37
3.9 Skema Uji Tanin II Buah Maja	37
3.10 Skema Uji Saponin Buah Maja.....	38
3.11 Skema Uji Glikosida Buah Maja	39
3.12 Skema Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Buah Maja.....	41
3.13 Skema Pembuatan Larutan DPPH	42
3.14 Skema Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	43
3.15 Skema Penentuan <i>Operating Time</i> Larutan DPPH.....	43
3.16 Skema Pembuatan Larutan Uji Sampel	44
3.17 Skema Pembuatan Larutan Induk Vitamin C	45
3.18 Skema Pembuatan Larutann Uji Seri Vitamin C	45
3.19 Skema Pembuatan Larutan Seri	46
3.20 Skema Pengukuran Serapan Aktivitas Antioksidan.....	47
4.1 Kurva Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal	63

4.2 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	65
4.2 Hubungan Antara Log Konsentrasi dengan Probit % Inhibisi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Maja.....	66

DAFTAR TABEL

1.1 Keaslian Penelitian.....	6
4.1 Hasil Uji Makroskopik Simplisia Buah Maja	50
4.2 Hasil Uji Mikroskopik Simplisia Buah Maja.....	51
4.3 Hasil Uji Flavonoid Buah Maja	54
4.4 Hasil Uji Alkaloid Buah Maja	55
4.5 Hasil Uji Tanin Buah Maja	57
4.6 Hasil Uji Saponin Buah Maja	58
4.7 Hasil Uji Glikosida Buah Maja.....	59
4.8 Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Buah Maja.....	61
4.9 Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	64
4.10 Aktivitas Antioksidan Vitamin Ekstrak Buah Maja.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Rendemen	73
Lampiran 2 Perhitungan Fase Gerak Dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ..	74
Lampiran 3 Pembuatan Larutan Seri	75
Lampiran 4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	79
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian	83

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia (setelah Brazil dan Zaire). Keanekaragaman hayati merupakan basis berbagai pengobatan dan penemuan industri farmasi dimasa mendatang. Jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat perwarna, penambah aroma makanan, parfum, insektisida dan obat. Ada 150.000 metabolit sekunder yang sudah diidentifikasi dan ada 4000 metabolit sekunder “baru” setiap tahun (Yuhernita & Juniarti, 2011)

Salah satu tanaman yang banyak mengandung metabolit sekunder adalah tanaman maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.). Tanaman maja atau disebut juga dengan mojo adalah sejenis tumbuhan subtropis yang mudah tumbuh dan berkembang di hampir seluruh wilayah di Indonesia. Buah maja sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah yang matang dapat di iris, dikeringkan, dan 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 tukak lambung. Daun maja mengandung saponin dan tannin, disamping itu akar dan kulit

batangnya mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol. Selain itu getah maja juga dapat digunakan sebagai obat *pharmaceutical* yang berfungsi sebagai perekat untuk obat-obatan tablet (Patil *et al*, 2010).

Pada penelitian sebelumnya Amit dan Rashmi (2011) menyatakan bahwa kandungan buah maja diantaranya alkaloid, terpenoid, polifenol, saponin, tanin, dan plobatanin. Pada penelitian lain juga disebutkan pula kandungan buah maja diantaranya alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin (Sridhar 2014). Buah maja mengandung komponen tanin 9%, sedangkan pada kulit buah maja mencapai 20% (Chavda *et al*, 2012).

Berdasarkan penelitian tersebut, ada banyak manfaat dan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) yang belum banyak diketahui oleh masyarakat, maka diperkirakan buah tersebut memiliki potensi dalam pengobatan penyakit. Aktivitas biologi buah maja juga belum banyak diketahui oleh masyarakat secara luas. Salah satu aktivitas biologi yang diduga terdapat pada buah maja adalah antioksidan. Antioksidan memiliki peranan yang penting bagi tubuh manusia dalam menangkal serangan radikal bebas atau kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas.

Pada pembuatan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) metode yang digunakan untuk mengekstraksi buah maja yaitu metode maserasi. Metode ini dipilih karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan cukup sederhana dan mudah diperoleh serta meminimalisir komponen kimia (Marjoni, 2016). Perbandingan yang digunakan adalah 10 :75 (Anief, 2006).

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Pengujian tersebut bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak buah maja setelah dilakukan uji fitokimia. 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.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan suatu penelitian dengan judul EKSTRAKSI DAN UJI KANDUNGAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan?
2. Berapa besar aktivitas antioksidan yang terkandung dalam buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.)?

1.3 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) yang didapat dari daerah Slerok Kota Tegal.
2. Metode dalam pembuatan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) adalah dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%.
3. Identifikasi sampel meliputi uji makroskopik dengan pengamatan fisik, uji mikroskopik dengan mikroskop, uji organoleptis dengan panca indera.
4. Uji kualitatif yang digunakan pada ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr) adalah flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan glikosida.
5. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam (plat) dan fase gerak (n-butanol : asam asetat : air) dengan perbandingan (4:1:5)
6. Uji aktivitas antioksidan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan DPPH.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka tujuan penelitian ini diuraikan sebagai berikut:

1. Mengetahui kandunganmetabolit sekunder pada ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) yang memiliki aktivitas antioksidan
2. Mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.).

1.5 Manfaat Penelitian

1. Bagi penulis

Memperoleh hasil dan penemuan dari penelitian serta menambah ilmu pengetahuan baru.

2. Bagi pembaca

Memberi informasi pada pembaca tentang manfaat dari Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) dan dipergunakan sebagai salah satu wacana ilmiah bagi Mahasiswa serta referensi bagi penulis di masa yang akan datang.

3. Bagi institusi

Sebagai syarat kelulusan dalam mencapai Gelar Ahli Madya Program Studi D-III Farmasi.

1.6 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Pembeda	Khasnah, <i>et al.</i> , 2014	Malik, <i>et al.</i> , 2016	Fauzi, 2020
Judul Penelitian	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidralazil)	Skrining Fitokimia dan Penetapan Total Ekstrak Metanolik Herba Boroco (<i>Celosia argentea</i> L.)	Ekstraksi Dan Uji Kandungan Antioksidan Buah Maja (<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corr.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis
Sampel Penelitian	Kulit Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	Tanaman Boroco (<i>Celosia argentea</i> L.)	Buah Maja (<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corr.)
Variabel Penelitian	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	Skrining Fitokimia dan Penentuan Kandungan Flavonoid Total Herba Boroco (<i>Celosia argentea</i> L.)	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corr.)
Metode Penelitian	Metode Maserasi, Uji Antioksidan dengan Metode DPPH	Metode Maserasi, Skrining Fitokimia, Penentuan Flavonoid Total	Metode Maserasi, Uji Metabolit Sekunder, Uji KLT, Uji Antioksidan
Hasil	Aktivitas antioksidan yang didapatkan bersifat aktif yaitu dengan mendapatkan hasil IC ₅₀ sebesar 54,458 µg/ml	Kadar flavonoid total pada ekstrak metanol herba boroco yaitu 2,57%	Aktivitas antioksidan yang IC ₅₀ yang didapat pada ekstrak buah maja adalah 269,153 µg/ml

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Maja

Kedudukan tanaman maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr) dalam taksonomi atau sistematika penamaan tumbuhan menurut (USDA, 2017) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Sapindales
Famili : Rutaceae
Genus : *Aegle*
Spesies : *Aegle marmelos* (L.) Correa



Gambar 2.1 Tanaman Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2020)

2.1.2 Morfologi

Pohon maja (*Aegle marmelos* L.) adalah tanaman perdu, yang memiliki kulit buah berwarna hijau dan bertekstur keras pada tempurungnya. Pohon ini tumbuh didaerah dataran rendah hingga dataran tinggi \pm 500 mdpl yang berupa habitus. Ketinggian pohon maja mencapai 20 m dengan kayu sangat keras dan tajuk menjulang. Bentuk batang buah maja adalah silindris. Terkadang pada batang tua melintir satu sama lain, permukaan kasar dan berwarna coklat kotor (Rismayani, 2013).

Batangnya pendek, kulit batang tebal, lebih lunak, kulit pohon berlapis-lapis, dan kadang pada batang pohon mempunyai duri yang menyebar pada ketiak daun. 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).

Bunga berwarna putih kehijauan dan berbau harum, terdapat 4 sampai 7 bunga yang bergerombol sepanjang cabang muda, memiliki 4 kelopak bunga yang tersusun secara selang seling. Buah berbentuk bulat atau oval dengan diameter 2 sampai 4 inci atau 5 sampai 10 cm. Kulit buah tipis, keras, dan berkayu (Nigam, 2015).

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).

2.1.3 Kandungan

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. Buah maja mengandung komponen tanin 9%, sedangkan pada kulit buah maja mencapai 20% (Chavda *et al*, 2012).

2.1.4 Manfaat

Buah maja dapat diolah menjadi minuman tradisional bernama “sharbat”, terbuat dari daging buah maja yang dihaluskan, di campur air, gula atau sirup dan es. Terdapat dalam ilmu pengobatan tradisional di India (Ayurvedic), maja digunakan sebagai obat gangguan pencernaan dan obat penurun demam pada bagian akarnya (Rismayani, 2013). Selain itu buah yang matang dapat diiris, dikeringkan dan 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 tukak lambung. Daun maja mengandung saponin dan tannin, disamping itu akar dan kulit batangnya mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol. Selain itu getah maja juga dapat digunakan sebagai obat *pharmaceutical* yang berfungsi sebagai perekat untuk obat-obatan tablet (Patil *et al*, 2010).

Tanaman maja juga bermanfaat sebagai bahan pestisida nabati untuk tanaman yang sedang diserang hama, dengan cara disemprotkan pada tanaman. Menurut Rismayani (2013), menyatakan bahwa hasil penelitian menunjukkan populasi hama penggerek buah kakao (*Canoporphia cramerella*) dapat terusir, karena ekstrak buah maja mempunyai bau yang menyengat dan rasa pahit selain itu sistem pencernaan serangga tersebut akan terganggu.

2.1.5 Simplisia

Simplisia atau herbal yaitu bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Ditjen POM, 2008). Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang

masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk (Gunawan, 2010).

Jadi simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Melinda, 2014).

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (Nurhayati, 2008). Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya (Melinda, 2014).

b. Simplisia hewani

Simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Nurhayati, 2008). Contohnya adalah minyak ikan dan madu (Gunawan, 2010).

c. Simplisia mineral

Simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau yang telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Contohnya serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan, 2010).

2.1.6 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan dengan cara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan utama obat sesedikit mungkin terkena panas (Depkes RI, 2014).

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer (*Extractum tenue*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang mudah mengalir. Ekstrak kental (*Extractum spissum*) merupakan sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang.

Kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%. Ekstrak kering (*Extractum siccum*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dihancurkan dengan tangan. Melalui penguapan dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk, yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%. Ekstrak cair (*Extractum fluidum*) merupakan sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat (Depkes RI, 2014).

2.1.7 Metode Ekstraksi (Maserasi)

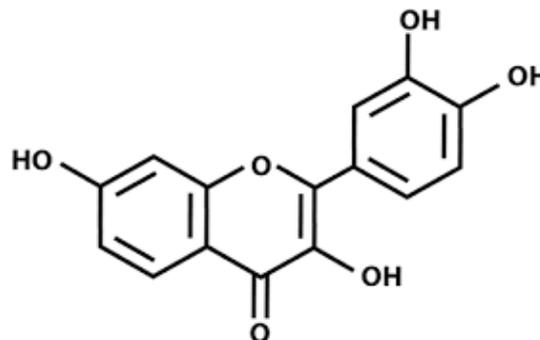
Maserasi merupakan metode sederhana yang banyak dilakukan untuk mengekstraksi senyawa dari tanaman. Terdapat dua tipe maserasi yaitu sederhana, ultrasonik dan kinetik atau pengadukan. Maserasi sederhana dapat dilakukan dengan merendam bagian simplisia secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup, yang dilakukan pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya tiga hari dengan pengadukan berulang kali sampai semua bagian tanaman dapat melarut dalam cairan pelarut. Proses ekstraksi dihentikan ketika telah tercapai kesetimbangan senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014). Selanjutnya

campuran di saring dan ampasnya diperas agar diperoleh bagian cairnya saja. Cairan jernih disaring atau didekantasi dan dibiarkan selama dalam waktu tertentu (Kumoro, 2015).

2.1.8 Flavonoid

Jenis senyawa metabolit sekunder yang paling banyak terkandung dalam tumbuhan adalah alkaloid dan flavonoid. Kedua senyawa ini umumnya berada tersebar pada seluruh bagian tanaman, misalnya pada akar, batang, daun, buah dan bunga. Namun yang berperan penting dalam melindungi tubuh dari serangan radikal bebas adalah senyawa flavonoid.

Salah satu sifat yang dimiliki oleh flavonoid sehingga dapat berperan sebagai antioksidan yaitu kemampuannya mendonorkan atom hidrogennya dengan cara mengkelat logam. Senyawa flavonoid sangat banyak tersebar dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6C_3C_6$, yang terdiri dari satu cincin A dan satu cincin B dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen (Redha, 2010).



Gambar 2.2 Struktur Senyawa Flavonoid (Redha, 2010).

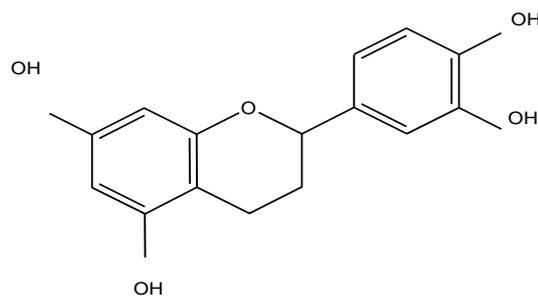
Flavonoid ditemukan tersebar pada bagian-bagian tanaman seperti buah, daun, biji, akar, kulit kayu, batang dan bunga. Fungsi umum yang dimiliki oleh flavonoid yaitu pemberi zat warna bunga pada tanaman dan membantu proses penyerbukan. Selain itu, senyawa ini juga berperan dalam perlindungan diri dari serangan jamur maupun paparan sinar UV-B. Senyawa ini memiliki struktur berupa cincin aromatis yang memberikan gambaran bahwa senyawa ini terbentuk dari jalur biosintesis poliketida (Raharjo, 2013).

Fungsi lain dari flavonoid dalam tanaman yaitu pemberi pigmen pada tanaman, misalnya memproduksi warna bunga merah, kuning atau biru. Selain itu, flavonoid juga melindungi struktur sel, meningkatkan produksi vitamin C, antiinflamasi dan antibiotik (Lumbessy, *et al*, 2013).

2.1.9 Tanin

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol dan dapat membentuk kompleks dengan protein membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air. Terdapat dua jenis utama tanin yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis terbagi menjadi dua yakni galotanin dan elagitanin. Tanin terkondensasi memiliki berat molekul 1000 – 3000, sedangkan tanin terhidrolisis memiliki berat molekul 1000 – 1500 pada galotanin dan 1000 – 3000 pada elagitanin (Harbone, 1996).

Tanin terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit (Robinson, 1995). Senyawa tanin merupakan senyawa yang termasuk golongan senyawa flavonoid, karena dilihat dari strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi (Hayati, *et al*, 2010).



Gambar 2.3 Struktur senyawa tanin (Robinson, 1995).

Tanin mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty, *et al*, 2008 dalam Malanggia, *et al*, 2012). Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan, menghambat

pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti “reverse” transkriptase dan DNA topoisomerase.

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 (Putri, 2016).

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

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 (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 (Putri, 2016).

2.1.11 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 dapat digolongkan menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Antioksidan vitamin

meliputi alfa tokoferol (Vitamin E), beta karoten (Pro Vitamin A), dan asam askorbat (Vitamin C) (Rohmatussolihat, 2009).

2.1.12 Mekanisme 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 lipid (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).

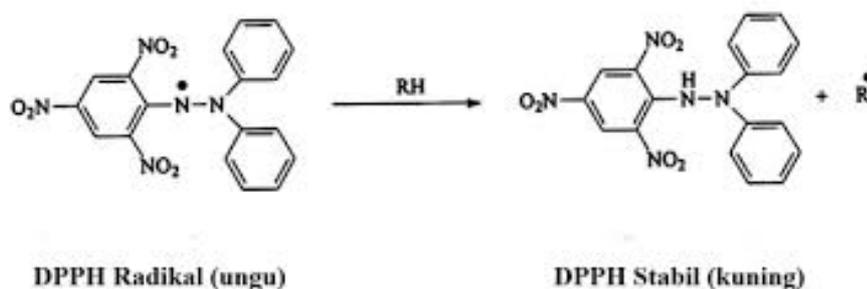
2.1.13 DPPH

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 Aktivitas Penangkap Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (Bendra, 2012).

2.1.14 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).

Komponen Instrument Spektrofotometri UV-Vis :

1. Sumber Radiasi

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

2. Monokromator

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

3. 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.

4. 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).

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. Buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan.
2. Terdapat aktivitas antioksidan dalam ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

Objek dari penelitian ini adalah uji metabolit sekunder dan uji aktifitas antioksidan pada ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

3.2 Sampel dan Teknik Sampling

Sampel yang digunakan adalah buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr) yang diperoleh dari daerah Slerok Kota Tegal. Teknik sampling yang di gunakan yaitu *simple random sampling*. *Simple random sampling* dilakukan dengan pengambilan anggota sampai dari populasi dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi ini. Cara demikian dilakukan bila anggota populasi dianggap homogen (Sugiyono, 2010).

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Merupakan variable yang menjadi sebab timbulnya atau berubahnya variabel tergantung. Dalam hal ini variable bebasnya adalah ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.).

3.3.2 Variabel Terikat

Merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dan uji aktivitas antioksidan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.).

3.3.3 Variabel Terkendali

Merupakan variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga tidak akan mempengaruhi variabel yang akan diteliti oleh peneliti. Dalam hal ini variabel terkendalinya adalah tempat pengambilan bahan, skrining fitokimia, metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan metode spektrofotometri UV-Vis.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.4.1 Cara Pengumpulan Data

1. Metode pengumpulan data menggunakan eksperimen laboratorium.
2. Metode analisis data menggunakan analisis kualitatif dan kuantitatif.

3.4.2 Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan elektrik, *beaker glass*, gelas ukur, sendok tanduk, cawan porselen, spatula, bunsen, kaki tiga, pipet volume, pipet tetes, mikro pipet, pipa kapiler, kaca penutup,

chamber, pinset, plat KLT, batang pengaduk, toples kaca, kainflanel, aluminium foil, plastik wrapping, mikroskop, objek *glass*, lampu UV 256 nm dan 366 nm, vial, labu ukur, dan SpektrofotometriUV-Vis.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.), vitamin C, etanol 70%, etanol 95%, metanol, aquadest, pereaksi Bouchardat& Mayer, larutan FeCl₃, larutan gelatin 1%, larutan HCl pekat, larutan HCl 2N, larutan butanol, larutan asam asetat, serbuk DPPH.

3.5 Cara Kerja

Dalam penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr), melalui beberapa tahap terlebih dahulu diantaranya adalah :

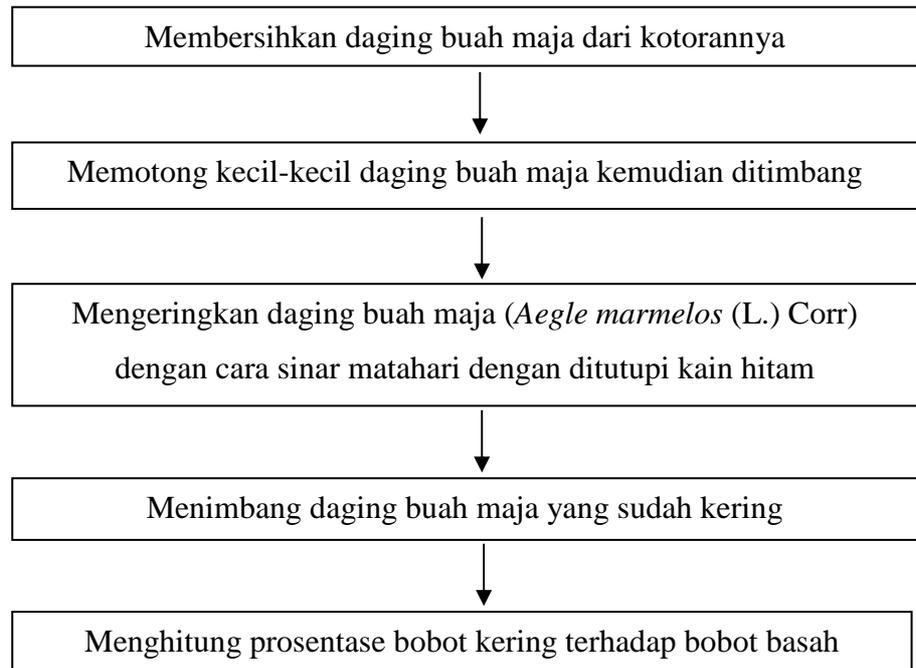
3.5.1 Pengumpulan Bahan

Buah maja yang digunakan dalam penelitian diperoleh secara random (acak) dari daerah Slerok Kota Tegal.

3.5.2 Prosentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah

Untuk mengetahui kadar air pada daging buah maja diperlukan menghitung prosentase bobot kering terhadap bobot basah. Sebelum daging buah maja dikeringkan, sebaiknya daging buah yang masih segar dibersihkan dari kotorannya, lalu

memotong kecil-kecil daging buah maja kemudian ditimbang untuk mengetahui berat basah sampel. Kemudian daging buah maja dikeringkan dengan sinar matahari dengan ditutupi kain hitam. Selanjutnya menimbang daging buah yang sudah kering kemudian menghitung prosentase bobot kering terhadap bobot basah.



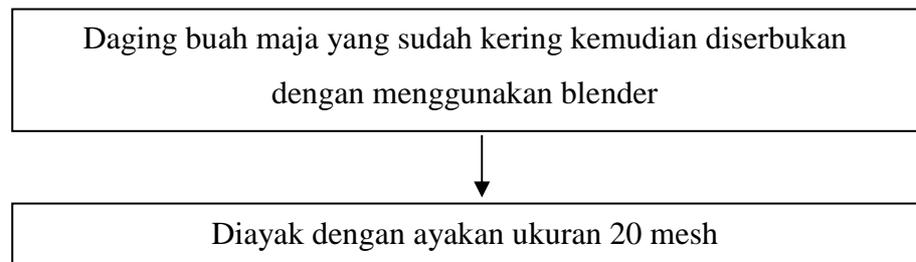
Gambar 3.1 Skema Prosentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr).

Berikut adalah rumus perhitungannya :

$$\% \text{ Bobot Kering Terhadap Bobot Basah} = \frac{\text{Bobot Kering}}{\text{Bobot Basah}} \times 100 \%$$

3.5.3 Pembuatan Serbuk Buah Maja

Daging buah maja yang telah dikeringkan kemudian diserbukan dengan menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan ayakan ukuran 20 mesh.



Gambar 3.2. Skema Pembuatan Serbuk Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

3.5.4 Uji Serbuk Simplisia

a. Uji Makroskopis

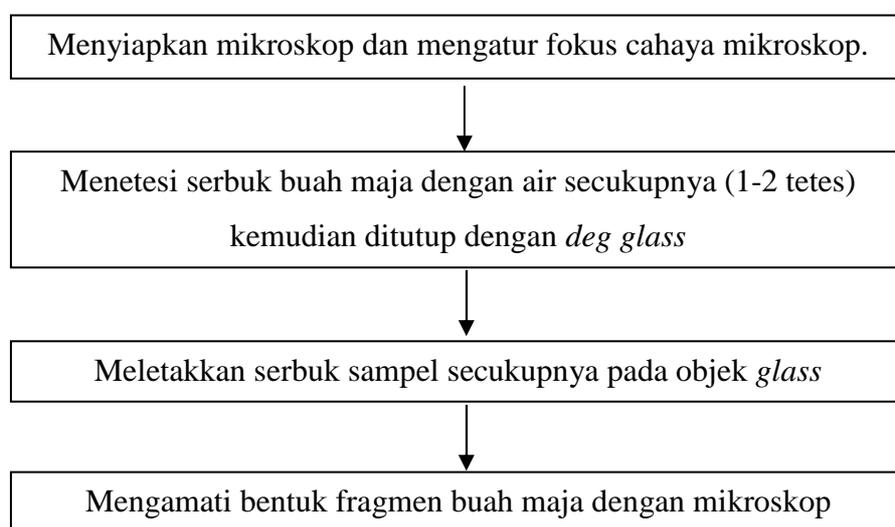
Mengidentifikasi serbuk simplisia buah maja dari segi bentuk, warna simplisia, mencium bau simplisia dan rasa simplisia menggunakan indra perasa (Andriani, 2016).



Gambar 3.3 Skema Uji Mikroskopik Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

b. Uji Mikroskopis

Untuk membuktikan bahwa sampel yang digunakan benar-benar sampel dari buah maja, maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan mikroskopik. Daging buah maja yang telah diserbuk diletakkan diatas objek *glass* secukupnya, kemudian ditetesi dengan air secukupnya (1-2 tetes). Kemudian ditutup dengan menggunakan *deg glass* dan diamati pada mikroskop (Andriani, 2016).



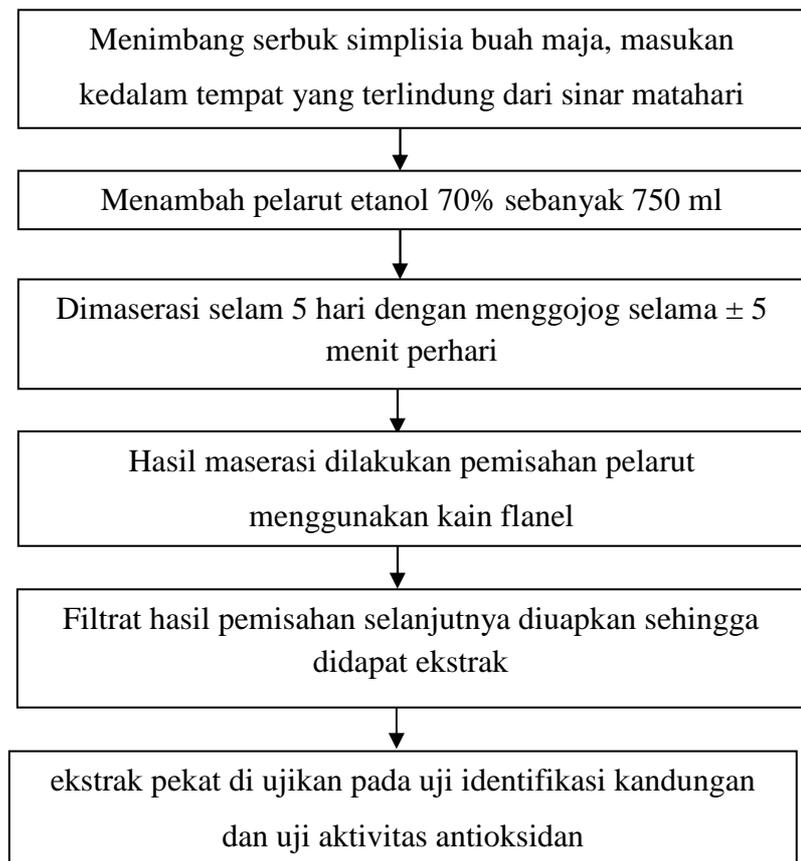
Gambar 3.4 Skema Uji Mikroskopik Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

3.5.5 Ekstraksi (Maserasi)

Menyiapkan alat dan bahan untuk mengekstrasi. Serbuk simplisia buah maja sebanyak 100 g diekstrasi dengan pelarut etanol 70% dengan penyari 1 : 7,5 dengan cara maserasi selama 5 hari dalam tempat yang terlindungi dari sinar matahari langsung dengan menggojog dalam sehari \pm 5 menit dengan tujuan agar

cairan penyari masuk kedalam sel serbuk sampel, kemudian disaring. Filtrat dievaporasi sehingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam tempat tertutup rapat.

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol 70% berdasarkan kepolaran dan kelarutan, senyawa yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar akan mudah larut dalam pelarut non polar (Khasanah, 2014)



Gambar 3.5 Skema Ekstraksi (Maserasi) Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

3.5.6 Perhitungan Rendamen

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dihitung rendamennya dengan rumus (Sani, *et al*, 2014) :

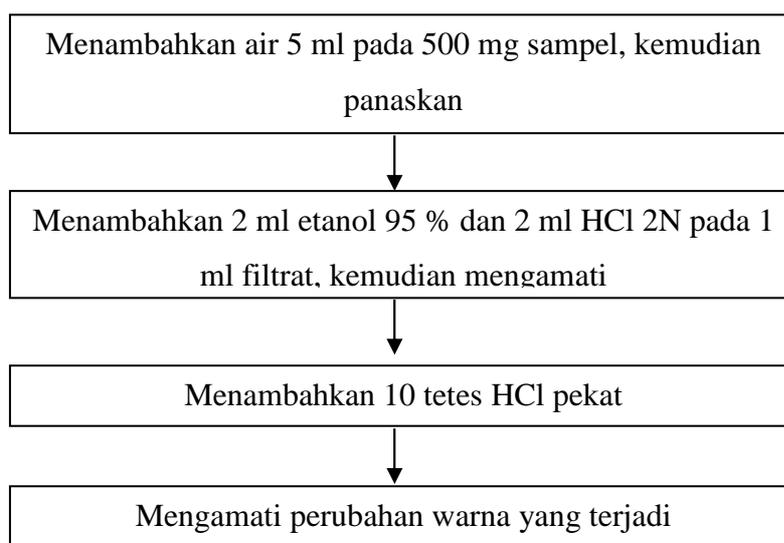
$$\text{Rendamen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental (y)}}{\text{Berat Sampel (x)}} \times 100 \%$$

3.5.7 Uji Fitokimia

Serbuk simplisia buah maja yang telah diperoleh diuji secara fitokimia. Uji ini merupakan uji kimia kualitatif menggunakan pereaksi yang spesifik. Uji fitokimia yang dilakukan terhadap serbuk simplisia buah maja meliputi:

1. Uji Flavonoid

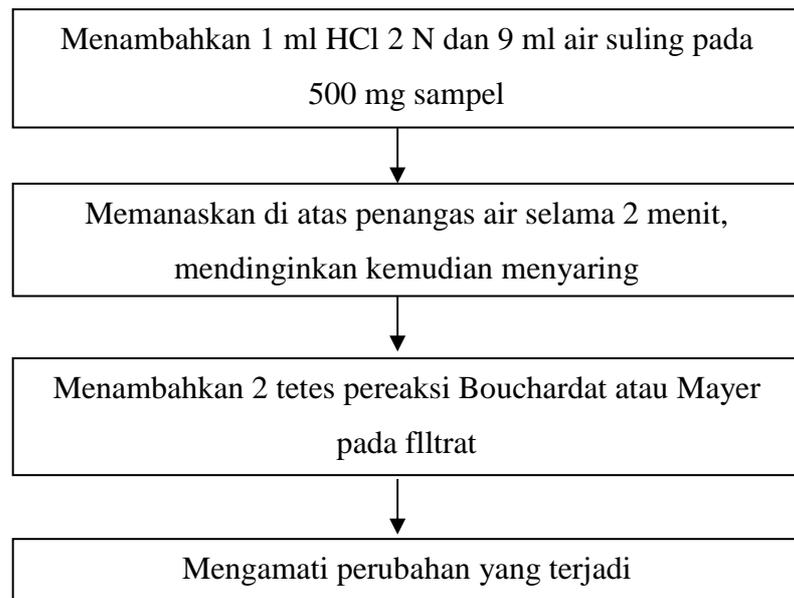
Sebananyak 500 mg serbuk sampel ditambahkan air 5ml, kemudian dipanaskan dengan penangas lalu saring dan ambil 1 ml filtrat dan menambahkan 2 ml etanol 95 % dan 2 ml HCl 2N lalu mengamati. Menambahkan 10 tetes HCl pekat dan mengamati perubahan yang terjadi. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoida. Jika terjadi warna kuning jingga menunjukkan adanya Havon, kalkon, dan auron (Malik, *et al.*, 2016).



Gambar 3.6 Skema Uji Flavonoid Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

2. Uji Alkaloid

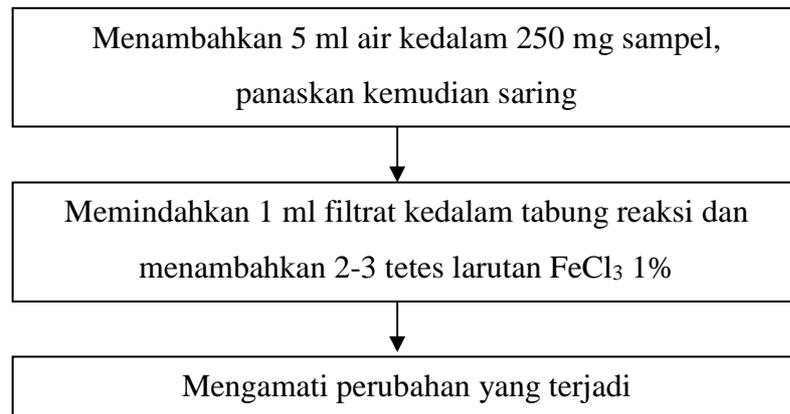
Sebanyak 500 mg sampel ditambah dengan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan kemudian disaring, 3 tetes filtrat dipindahkan pada kaca arloji, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat atau Mayer. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam dengan pereaksi Bouchardat LP (Malik, *et al.*, 2016).



Gambar 3.7 Skema Uji Alkaloid Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

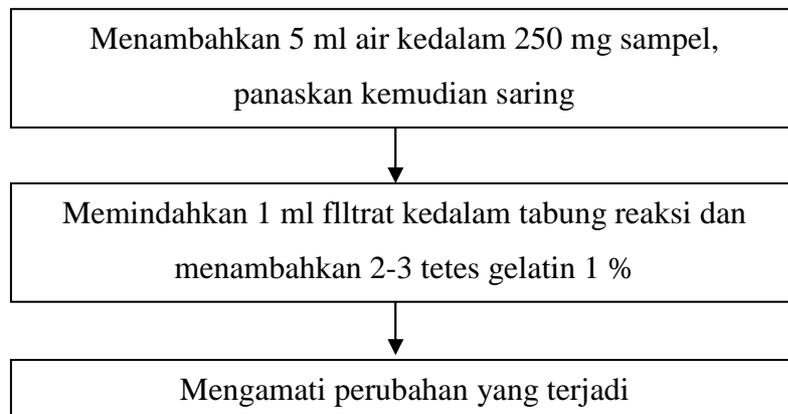
3. Uji Tanin

Sebanyak 250 mg sampel ditambahkan 5 ml air kemudian panaskan menggunakan penangas air lalu menyaring. Sebanyak 1 ml filtrat dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Sastrawan, *et al.*, 2013).



Gambar 3.8 Skema Uji Tanin I Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

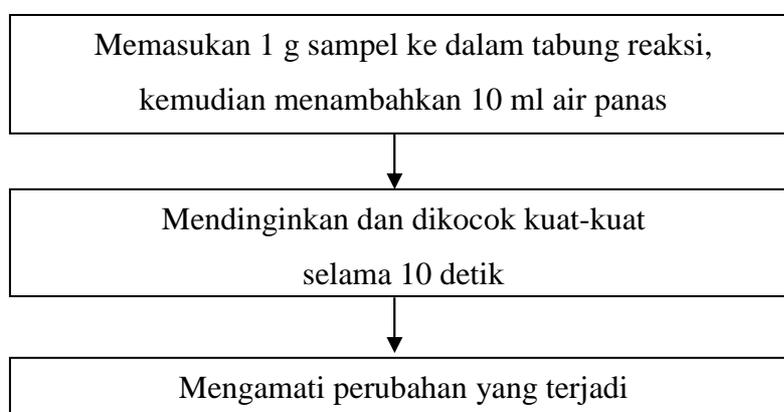
Uji tanin yang kedua 1 ml filtrat dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes gelatin 1 %. Hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan putih (Kumoro, 2015).



Gambar 3.9 Skema Uji Tanin II Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

4. Uji Saponin

Sebanyak 500 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Reaksi positif jika terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Malik, *et al.*, 2016).

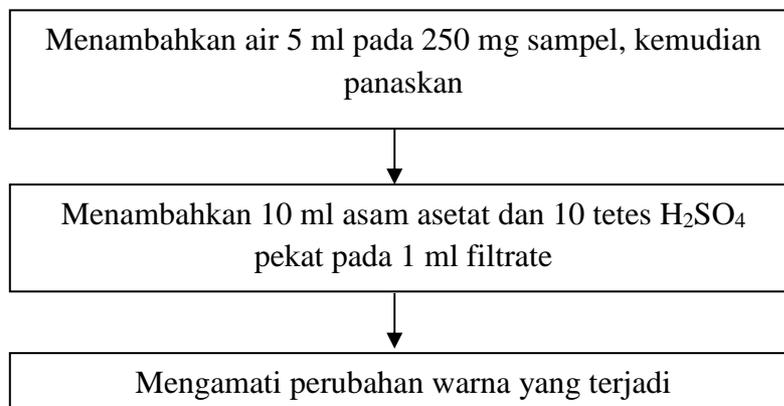


Gambar 3.10 Skema Uji Saponin Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

5. Uji Glikosida

Identifikasi senyawa glikosida dilakukan dengan cara memasukkan 250 mg simplisia ke dalam beaker glass ± air 5 ml. Lalu panaskan dengan penangas air, saring dan ambil 1 ml filtrate. Kemudian tambahkan 5 ml asam asetat anhidrat dan 10 tetes H_2SO_4 pekat. Amati perubahan warna yang terjadi Jika terbentuk

warna biru/hijau menandakan adanya senyawa glikosida (reaksi lieberman burchard) (Malik, *et al.*, 2016).



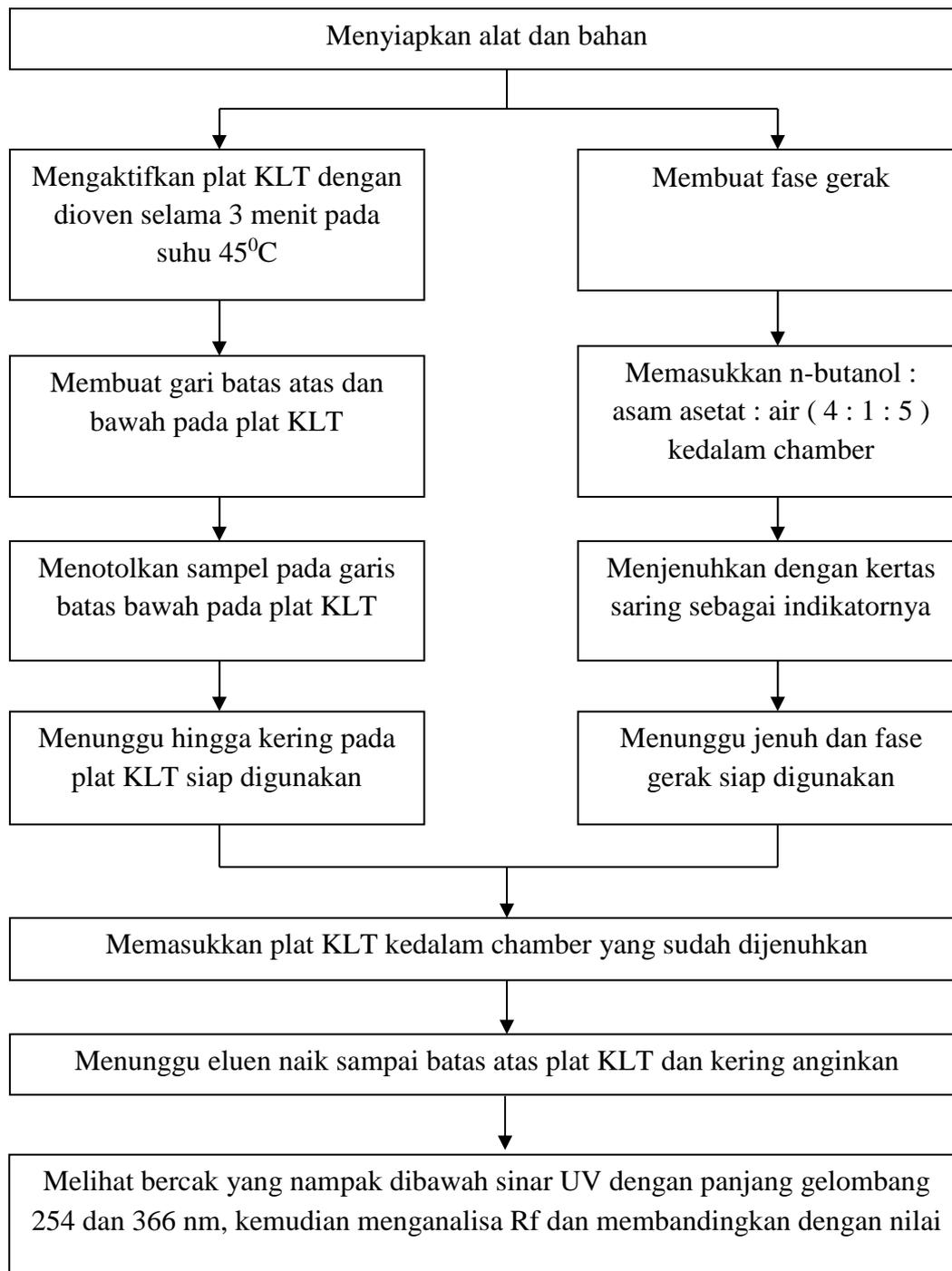
Gambar 3.11 Skema Uji Glikosida Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)

3.5.8 Kromatografi Lapis Tipis

Setelah mendapatkan rendemen, kemudian dilakukan uji senyawa fenolat dengan metode KLT. Menyiapkan alat dan bahan. Plat KLT lapis silica gel yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 3 menit pada suhu 45°C untuk mengurangi kadar air dalam plat KLT. 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

ileh 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 nm. 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 reoritis (Lutfitasari, 2016).



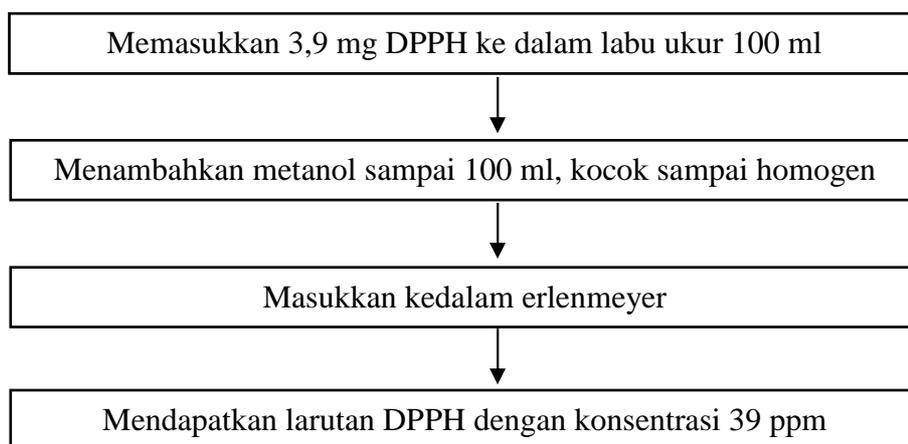
Gambar 3.12 Skema KLT Ekstrak Buah Maja (*Aegle marmelos*

(L.) Corr)

3.5.9 Uji Kandungan Antioksidan dengan DPPH

1. Pembuatan Larutan DPPH

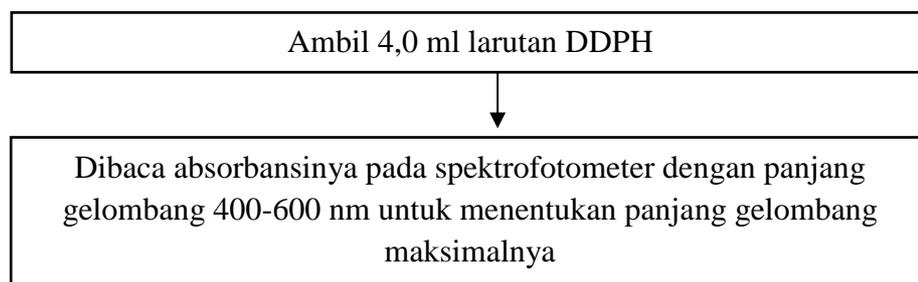
Serbuk DPPH sebanyak 3,9 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml kemudian volume dicukupkan dengan methanol sampai tanda batas dan kocok sampai homogen.



Gambar 3.13 Skema Pembuatan Larutan DPPH

2. Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH

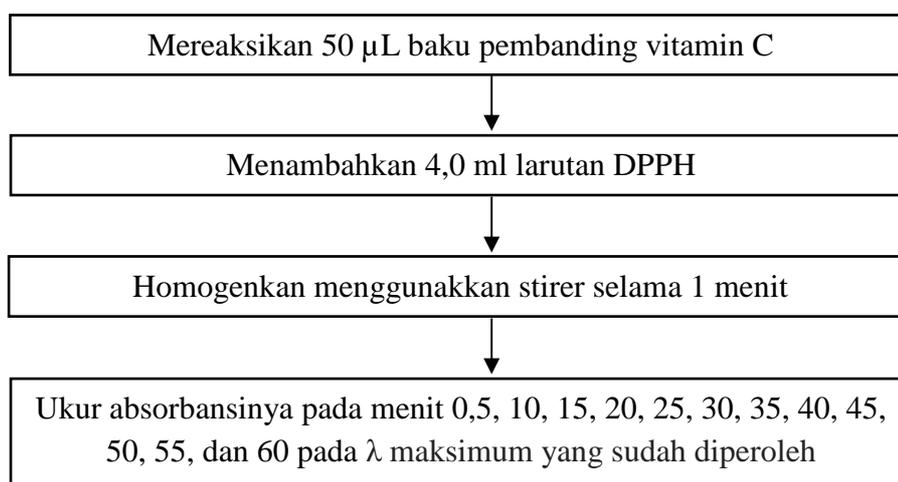
Mengambil 4,0 ml larutan DPPH untuk dibaca absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 400-600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimalnya (Khasanah, 2014).



Gambar 3.14 Skema Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH

3. Penentuan *operating time* larutan DPPH

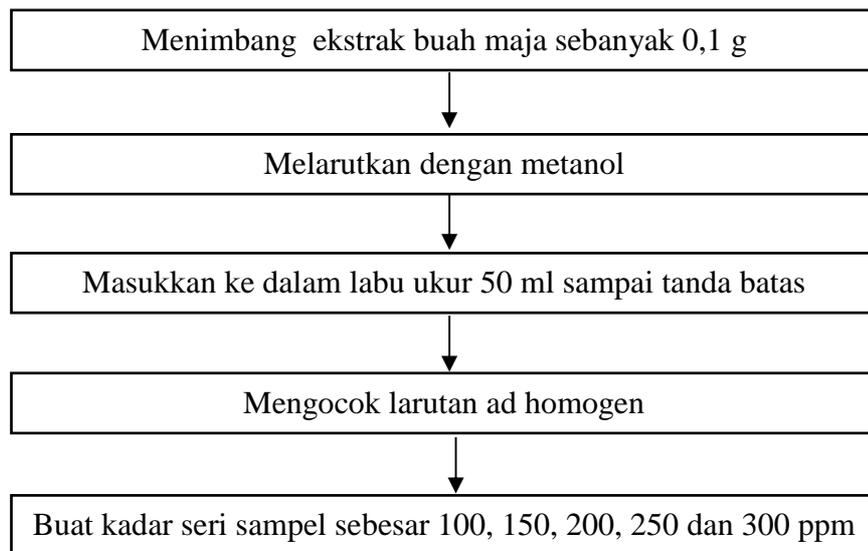
Mereaksikan 50 μL baku pembanding vitamin C dan ditambahkan 4,0 ml larutan DPPH, dihomogenkan dengan stirer selama 1 menit dan diukur absorbansinya pada menit ke 0,5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 pada λ maksimum yang sudah diperoleh (Khasanah, 2014).



Gambar 3.15 Skema Penentuan *operating time* larutan DPPH

4. Pembuatan Larutan Uji Sampel Hasil Ekstraksi

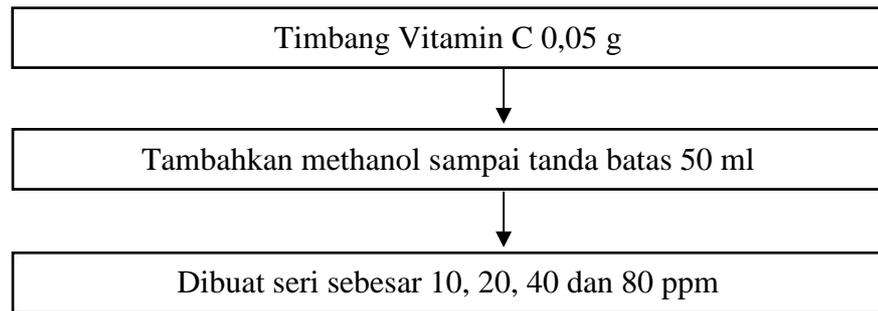
Menimbang ekstrak buah maja 0,1 gram kemudian dilarutkan dengan metanol sampai 50 ml pada labu ukur. Setelah itu, larutan dibuat serikonsentrasi sebesar 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm.



Gambar 3.16 Skema Pembuatan Larutan Uji Sampel

5. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C Sebagai Kontrol Positif

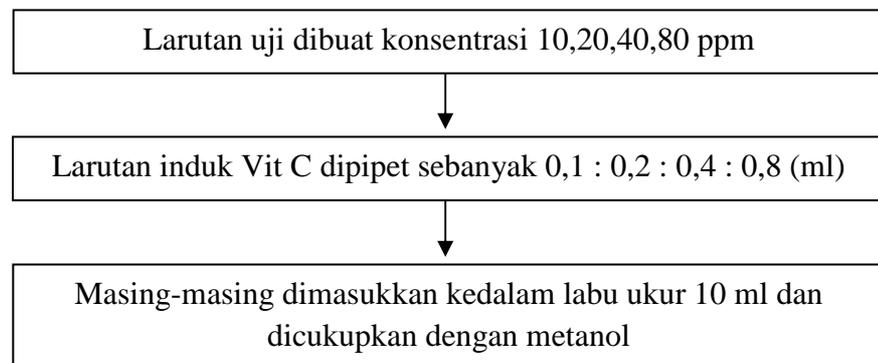
Vitamin C sebanyak 0,05 g ditambahkan methanol sampai 50ml. Volume dicukupkan dengan methanol sampai tanda batas. Kemudian dari kadar ini dibuat seri konsentrasi sebesar 10, 20, 40, dan 80 ppm.



Gambar 3.17 Pembuatan Larutan Induk Vitamin C Sebagai Kontrol Positif

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

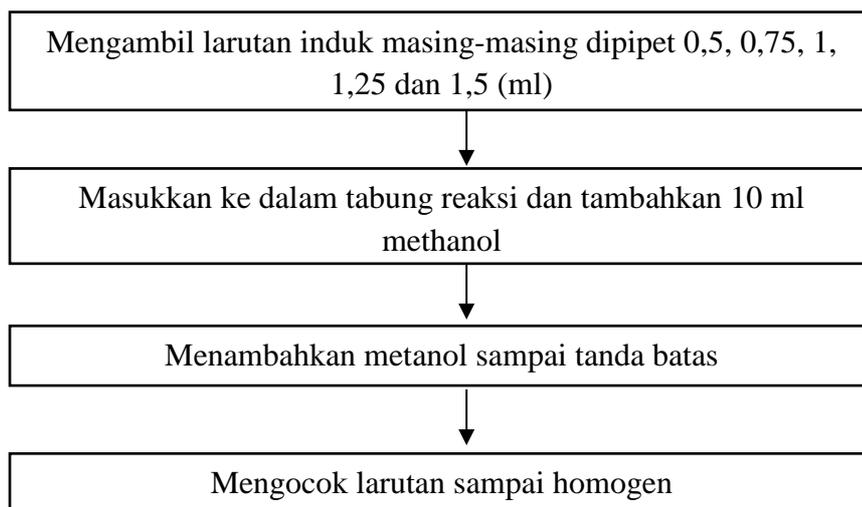
Larutan induk Vitamin C masing-masing di pipet 0,1, 0,2, 0,4, dan 0,8 ml dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml. Volume dicukupkan dengan methanol sampai tanda batas.



Gambar 3.18 Pembuatan Larutan Uji Seri Vitamin C (10, 20, 40, 80 ppm)

7. Pembuatan Larutan Seri 100, 150, 200, 250 dan 300 (ppm)

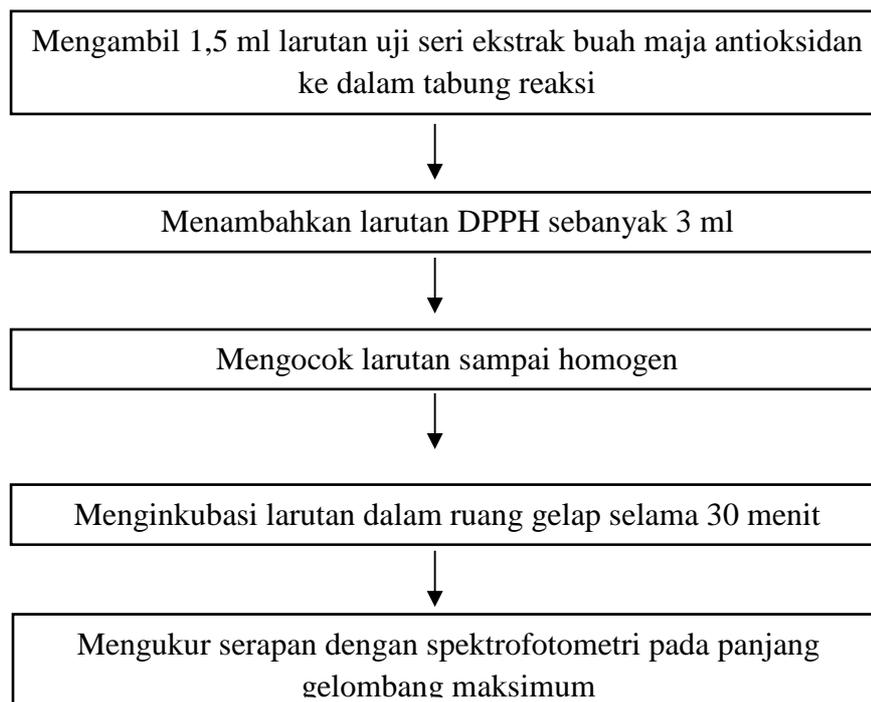
Larutan induk ekstrak buah maja masing-masing dipipet 0,5, 0,75, 1, 1,25 dan 1,5 (ml) dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan masing-masing dengan methanol sebanyak 10 ml.



Gambar 3.19 Skema Pembuatan Larutan Seri

8. Pengukuran Serapan Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Larutan seri antioksidan ekstrak buah maja sebanyak 1,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan dengan larutan DPPH sebanyak 3 ml, kemudian dikocok sampai homogen dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis.



Gambar 3.20 Skema Pengukuran Serapan Aktivitas Antioksidan

9. Analisis Data Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dinyatakan dengan nilai perendaman DPPH (% inhibisi), semakin besar nilai perendamannya maka akan semakin besar juga nilai antioksidannya. Prosentase aktivitas penghambatan DPPH pada masing-masing sediaan. Dinyatakan dengan rumus (Suryani, *et al*, 2015):

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

10. Perhitungan IC_{50}

IC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%. IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dimana log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai probit sebagai sumbu y. Dari persamaan $y = ax + b$ dapat dihitung nilai IC_{50} , dengan menggunakan rumus (Zuhra, *et al*, 2008):

$$y = ax + b$$

$$S = ax + b$$

$$X = \frac{S - b}{a}$$

11. Analisa Hasil

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

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang bersifat antioksidan dan uji aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak etanolik buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.). Dari penelitian ini dapat diketahui kandungan metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan yang terdapat dalam ekstrak buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) dan mengetahui konsentrasi ekstrak etanolik buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.) pada uji aktivitas antioksidan.

4.1 Persiapan Sampel

Buah maja yang digunakan pada penelitian ini berasal dari kelurahan Slerok, Kota Tegal, Jawa Tengah tepatnya di SMP 15 Tegal. Proses awal yang dilakukan pada penelitian ini yaitu buah maja yang akan dibuat serbuk simplisia melalui beberapa proses yaitu pengumpulan bahan, pencucian, perajangan, pengeringan dan penghalusan. Buah maja dipetik langsung dari pohonnya yang tumbuh di Kelurahan Slerok tepatnya di SMP 15 Tegal. Buah maja yang telah didapatkan kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir. Tahap selanjutnya adalah dilakukan proses perajangan dengan tujuan untuk mempermudah dalam proses pengeringan, penghalusan dan mempermudah penimbangan buah maja. Proses perajangan dilakukan dengan pemisahan daging buah dengan kulitnya, kemudian daging buah maja dipotong kecil-kecil seperti dadu dengan ukuran ± 1 cm. Selanjutnya proses pengeringan buah maja dilakukan

dengan cara dijemur dengan sinar matahari dengan ditutupi kain hitam. Tujuan pengeringan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam simplisia supaya diperoleh simplisia yang tidak mudah rusak dan tidak terjadi kerusakan komposisi kandungan senyawa dalam buah maja. Setelah di keringkan kemudian diserbuk dengan menggunakan blender dan di ayak dengan ayakan nomer 20 mesh. Hal ini bertujuan untuk mempermudah proses penarikan zat karena semakin kecil ukuran serbuk maka semakin luas permukaan sehingga akan lebih mudah keluar kepermukaan bahan dan dapat terekstraksi secara sempurna.

4.1.1 Uji Makroskopis

Uji Makroskopis, bertujuan untuk menentukan ciri khas simplisia dengan pengamatan secara langsung menggunakan panca indra.

Tabel 4.1 Hasil Uji Makroskopik Pada Serbuk Buah Maja

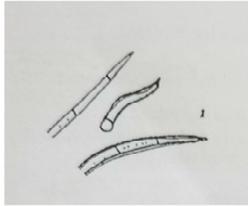
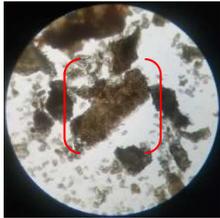
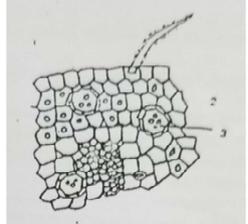
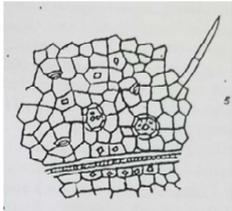
Gambar	Sampel	Literatur (MMI, 1980)
	Bentuk : Serbuk agak kasar Warna : Hitam Bau : Khas aromatic Rasa : Kelat dan sedikit pahit	Bentuk : Serbuk Warna : Hitam Bau : Khas aromatic Rasa : Kelat lama- lama pahit

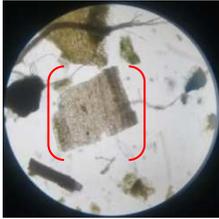
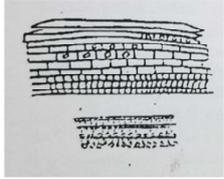
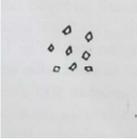
Dari tabel diatas hasil pengamatan mikroskopis pada serbuk simplisia buah maja didapatkan berwarna hitam. Mempunyai rasa kelat dan sedikit pahit serta mempunyai bau yang khas aromatik.

4.1.2 Uji Mikroskopis

Uji Mikroskopis bertujuan untuk mengamati fragmen pengenal yang merupakan komponen spesifik untuk mengidentifikasi simplisia buah maja.

Tabel 4.2 Hasil Uji Mikroskopik Pada Serbuk Buah Maja

No.	Hasil	Literatur (MMI, 1980)
1.		 Rambut Penutup
2.		 Epidermis atas dengan palisade artefax dan kelenjar minyak
3.		 Mesofil
4.		 Epidermis bawah

5.		
		Berkas pembuluh dengan serabut sklerenkim
6.		
		Kristal kalsium oksalat bentuk prisma

Dari tabel diatas didapatkan hasil gambar rambut penutup, epidermis atas dengan palisade artefax dan kelenjar minyak, mesofil, epidermis bawah, berkas pembuluh dengan serabut sklerenkim, dan kristal kalsium oksalat bentuk prisma. Pada gambar tersebut menunjukkan bagian-bagian buah yang sangat mencolok yang menunjukkan ciri khas dari buah maja, jadi dapat disimpulkan bahwa sampel yang diteliti benar-benar simplisia buah maja.

4.2 Ekstraksi

Serbuk buah maja kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi, metode maserasi dilakukan selama 5 hari dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol 70% dapat menarik senyawa flavonoid yang merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton dan lain-lain sehingga dapat tertarik senyawa flavonoid dan terpisah dari sampel.

Penggunaan etanol 70% karena senyawa flavonoid yang terdapat pada buah maja yaitu jenis flavonol yang dapat menarik hidroksida (-OH) dari etanol 70% lebih banyak. Sampel yang digunakan sebanyak 100 gram dengan perbandingan pelarut yaitu 1 : 7,5 maka etanol yang ditambahkan yaitu sebanyak 750 ml. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari pada suhu kamar dengan pengadukan dalam sehari \pm 5 menit agar simplisia tersari dengan sempurna dan pelarut yang digunakan masuk ke dalam zat aktif (sel serbuk sampel).

Pemisahan filtrat dengan ampas menggunakan kain flanel sehingga didapat ekstrak cair. Ekstrak cair yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan evaporator dengan suhu 70° C. Untuk didapatkan ekstrak kental penguapan dilakukan sampai bau etanol pada ekstrak benar-benar hilang. Pada penelitian ini diperoleh ekstrak kental dengan hasil 36,69 g dengan hasil rendemen sebesar 36,69 %

4.3 Uji Flavonoid

Flavonoid umumnya lebih mudah larut dalam air atau pelarut polar dikarenakan memiliki ikatan dengan gugus gula (Markham, 1998). Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan filtrat dari serbuk buah maja dengan HCl pekat. Penambahan HCl pekat bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavon,

flavonolol dan xanton (Malik *et al.*, 2016). Hasil uji flavonoid menunjukkan bahwa serbuk buah maja memiliki kandungan senyawa flavonoid, hal ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi jingga merah.

Tabel 4.3 Hasil Uji Flavonoid Buah Maja

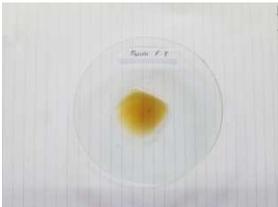
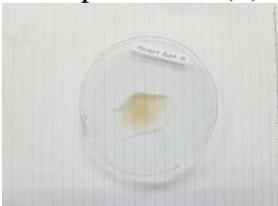
Identifikasi	Perlakuan	Hasil	Standar Literatur
Flavonoid	Sebanayak 500 mg serbuk + air 5ml, kemudian dipanaskan dengan penangas lalu saring dan ambil 1 ml filtrat dan menambahkan 2 ml etanol 95 % dan 2 ml HCl 2N lalu mengamati. Menambahkan 10 tetes HCl pekat dan mengamati perubahan yang terjadi.	 <p>Jingga-merah (+) (Sumber : data primer penelitian)</p>	Warna merah jingga sampai merah ungu adanya flavonoid. Warna kuning jingga adanya flavon (Malik, <i>et al.</i> , 2016)

4.4 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan kemudian disaring, 3 tetes filtrat dipindahkan pada kaca arloji, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat atau Mayer. Tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan dengan pelarut asam. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer,

diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap dan pada uji Bouchardat LP ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Svehla, 1990). Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam dengan pereaksi Bouchardat LP dan terbentuk endapan berwarna kuning sampai putih dengan pereaksi Mayer (Malik *et al.*, 2016). Hasil uji alkaloid menunjukkan bahwa serbuk buah maja memiliki kandungan senyawa alkaloid, hal ini ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat dengan pereaksi Bouchardat dan endapan kuning pada pereaksi Mayer.

Tabel 4.4 Hasil Uji Alkaloid Buah Maja

Identifikasi	Perlakuan	Hasil	Standar Literatur
Alkaloid	Sebanyak 500 mg sampel ditambahkan 1 ml HCl 2N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan kemudian disaring, 3 tetes filtrat dipindahkan pada kaca arloji, tambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat atau Mayer.	 Endapan coklat (+)  Endapan kuning (+) (Sumber : data primer penelitian)	endapan berwarna coklat sampai hitam dengan pereaksi Bouchardat LP dan terbentuk endapan berwarna kuning sampai putih dengan pereaksi Mayer (Malik, <i>et al.</i> , 2016).

4.5 Uji Tanin

Uji Tanin dilakukan dengan menambahkan 5 ml air kemudian panaskan menggunakan penangas air lalu menyaring. Sebanyak 1 ml filtrat dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Penambahan FeCl_3 digunakan untuk menentukan kandungan senyawa fenol. Tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 ditandai dengan adanya gugus ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Sastrawan, *et al.*, 2013). Perubahan warna disebabkan oleh reaksi penambahan FeCl_3 dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin.

Uji tanin yang kedua 1 ml filtrat dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes gelatin 1 %. Uji tanin dengan gelatin digunakan untuk memeperkuat dugaan adanya tanin dalam ekstrak buah maja. Semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambahkan dengan gelatin Hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan putih (Kumoro, 2015). Hasil uji Tanin I menunjukkan bahwa serbuk buah maja memiliki kandungan senyawa tanin I, hal ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi hitam kebiruan dan pada uji tanin II dengan adanya endapan putih yang berarti positif mengandung tanin II.

Tabel 4.5 Hasil Uji Tanin Buah Maja

Identifikasi	Perlakuan	Hasil	Standar Literatur
Tanin	Sebanyak 250 mg sampel ditambahkan 5 ml air kemudian panaskan menggunakan penangas air lalu menyaring. Sebanyak 1 ml filtrat dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl ₃ 1%.	 Hitam-biru (+)	Tanin I terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Sastrawan, et al., 2013). Tanin II terbentuknya endapan putih (Kumoro,2015).
	Uji tanin yang kedua 1 ml filtrat dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes gelatin 1 %.	 Endapan putih (+) (Sumber : data primer penelitian)	

4.6 Uji Saponin

Uji Saponin dengan menambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Reaksi positif jika terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang (Malik *et al.*, 2016). Buih yang ditimbulkan saponin dikarenakan adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai saponin non polar dan ranting samping polar yang larut dalam air (Kristianingsih, 2002) Buih yang dihasilkan saponin tidak terpengaruh oleh asam sehingga

setelah ditambah HCl 2N tetap stabil dan buih tidak hilang. Hasil uji saponin menunjukkan bahwa serbuk buah maja memiliki kandungan senyawa saponin, hal ini ditunjukkan dengan terdapatnya buih stabil dengan tinggi ± 1 cm.

Tabel 4.6 Hasil Uji Saponin Buah Maja

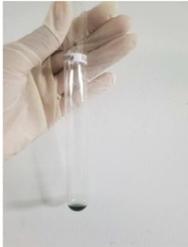
Identifikasi	Perlakuan	Hasil	Standar Literatur
Saponin	Sebanyak 500 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Tambahkan 1 tetes asam klorida 2 N	 Buih stabil (+) (Sumber : data primer penelitian)	terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm (Malik, <i>et al.</i> , 2016).

4.7 Uji Glikosida

Uji Glikosida dilakukan dengan cara memasukkan 250 mg simplisia ke dalam beaker glass + air 5 ml. Lalu panaskan dengan penangas air, saring dan ambil 1 ml filtrate. Kemudian tambahkan 5 ml asam asetat anhidrat dan 10 tetes H₂SO₄ pekat. Penambahan H₂SO₄ pekat akan bereaksi dengan terbentuk suatu cincin berwarna coklat pada permukaan larutan yang menandakan adanya kardenolida. Setelah itu cincin yang berwarna ungu akan nampak dibawah cincin yang berwarna

coklat, dan pada saat itu berada dalam lapisan asam asetat secara berangsur-angsur akan terbentuk lapisan kehijau-hijauan. (Edeoga, *et al.*, 2005). Perubahan warna yang terjadi Jika terbentuk warna biru/hijau menandakan adanya senyawa glikosida (reaksi lieberman) (Malik *et al.*, 2016). Hasil uji glikosida menunjukkan bahwa serbuk buah maja memiliki kandungan senyawa glikosida, hal ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau.

Tabel 4.7 Hasil Uji Glikosida Buah Maja

Identifikasi	Perlakuan	Hasil	Standar Literatur
Glikosida	250 mg simplisia ke dalam beaker glass + air 5 ml. Lalu panaskan dengan penangas air, saring dan ambil 1 ml filtrate. Kemudian tambahkan 5 ml asam asetat anhidrat dan 10 tetes H ₂ SO ₄ pekat.	 <p>Hijau (+) (Sumber : data primer penelitian)</p>	warna biru/hijau menandakan adanya senyawa glikosida (reaksi lieberman burchard). (Malik, <i>et al.</i> , 2016)

4.8 Kromatografi Lapis Tipis

Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk mengukur kadar flavonoid ekstrak buah maja. Untuk memastikan bahwa yang diperoleh mengandung senyawa flavonoid sebagai antioksidan. Metode ini digunakan karena sederhana dan memerlukan bahan yang sedikit, diperoleh pemisahan yang baik, dan membutuhkan waktu yang singkat untuk pengerjaannya (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 dioven selama 3 menit dengan suhu 45°C, 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 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 KLT dianalisis dengan menggunakan alat lampu sinar ultraviolet

dengan panjang gelombang 366 nm. Rf diperoleh ditandai dengan pensil. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan KLT terlihat bercak apada plat KLT sehingga diperoleh nilai Rf dan HRf. Berikut adalah hasil Rf dan HRf menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4:1:5.

Tabel 4.8 Hasil Kromatografi Lapis Tipis Buah Maja

Sampel	Nilai		Standar (Ridwanuloh, 2019)
	Rf	HRf	Rf
Ekstrak Buah Maja	0,512	51,2	0,2 – 0,8

Nilai Rf yang dihasilkan dari KLT untuk ekstrak buah maja adalah 0,512 dan noda yang dihasilkan berwarna hijau kekuningan. Menurut Markham (1988), senyawa flavonoid menunjukkan warna hijau atau kuning. Hal tersebut menunjukkan ekstrak buah maja positif mengandung senyawa flavonoid. 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. (Yuda, 2017).

4.9 Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah Maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr.)

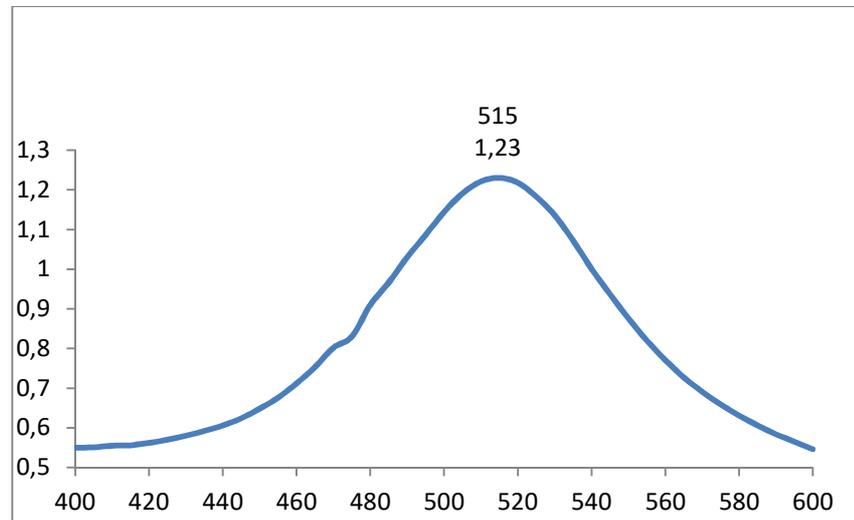
Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode spektrofotometri UV: Vis menggunakan serbuk DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Aktivitas antioksidan ditentukan dari kemampuan sampel uji untuk merubah warna ungu dari DPPH menjadi warna kuning pada panjang

gelombang maksimalnya. Metode DPPH dipilih karena metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk penampisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, efektif dan praktis (Molyneux, 2003).

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 inkubasi. Nilai absorbansi DPPH dapat ditentukan nilai presentasi penghambatan radikal DPPH (persen inhibisi). Dari nilai 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 IC_{50} berarti semakin tinggi nilai antioksidannya. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier. 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 400-600 nm.

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.



Gamabar 4.1 Kurva Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal

Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dapat dilakukan pada panjang gelombang 515 nm dengan konsentrasi DPPH sebesar 1000 ppm. Antioksidan standar ekstrak buah maja digunakan sebagai pembandingan dibuat dengan konsentrasi 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm. Setelah didapatkan absorbansi dari masing-masing konsentrasi kemudian menghitung % inhibisinya. Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan prosentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. Persen inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansikontrol} - \text{Absorbansisampel}}{\text{Absorbansikontrol}} \times 100\%$$

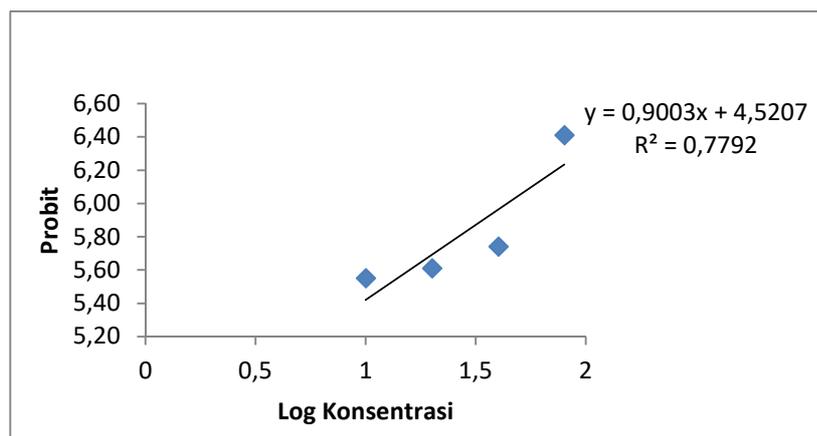
Dibawah ini merupakan tabel hasil dari aktivitas antioksidan vitamin C sebagai pembanding.

Tabel 4.9 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi
Vitamin C	10	0,372	71,76
	20	0,352	73,25
	40	0,293	77,75
	80	0,104	92,11

Absorbansi Blanko = 1,318

Dari tabel hasil absorbansi larutan vitamin C diatas dapat dinyatakan bahwa absorbansi pada setiap konsentrasi larutan seri mengalami penurunan yang baik, kemudian dilakukan perhitungan presentase inhibisi dan selanjutnya dilakukan perhitungan probit. Selanjutnya dibuat kurva regresi linier yang diperoleh dari hasil konsentrasi larutan uji ekstrak buah maja diubah menjadi log dan % inhibisi yang diubah menjadi probit. Regresi linier digunakan untuk mengetahui besarnya kandungan antioksidan dalam sediaan. Berikut adalah kurva regresi linier pada vitamin C.



Gambar 4.2 Hubungan Antara Log Konsentrasi Dengan Probit %
Inhibisi Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Dari data diatas dapat dinyatakan bahwa adanya kenaikan nilai probit dengan menghasilkan nilai $y = 0,900 x$ dan $r = 0,779$. Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dilakukan untuk mengetahui besarnya konsentrasi larutan uji ekstrak buah maja yang mampu menurunkan 50% absorbansi DPPH dibandingkan dengan larutan blangko. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari vitamin C yaitu $3,412 \mu\text{g} / \text{mL}$. Hasil tersebut termasuk aktivitas antioksidan sangat kuat.

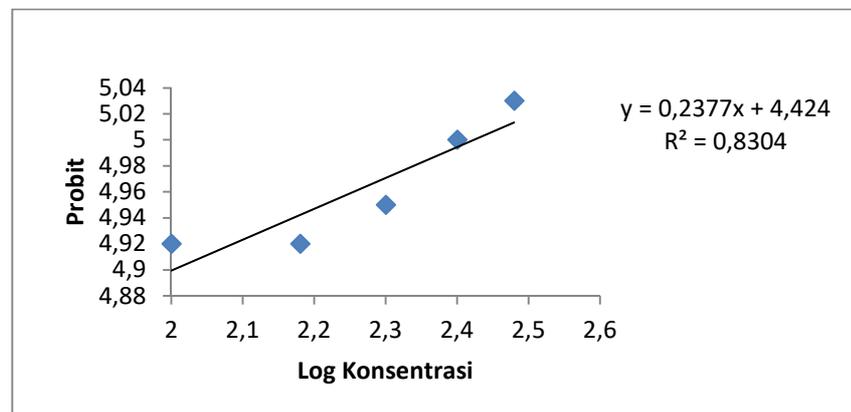
Dibawah ini merupakan tabel hasil dari aktivitas antioksidan ekstrak buah maja.

Tabel 4.10 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Maja

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
Ekstrak Buah Maja	100	0,680	46,569
	150	0,679	46,647
	200	0,658	48,324
	250	0,640	49,738
	300	0,618	51,467

Absorbansi Blanko = 1,273

Dari tabel hasil absorbansi larutan ekstrak buah maja diatas dapat dinyatakan bahwa absorbansi pada setiap konsentrasi larutan seri mengalami penurunan yang baik, kemudian dilakukan perhitungan presentase inhibisi dan selanjutnya dilakukan perhitungan probit. Selanjutnya dibuat kurva regresi linier yang diperoleh dari hasil konsentrasi larutan uji ekstrak buah maja diubah menjadi log dan % inhibisi yang diubah menjadi probit. Regresi linier digunakan untuk mengetahui besarnya kandungan antioksidan dalam sediaan. Berikut adalah kurva regresi linier pada ekstrak buah maja.



Gambar 4.3 Hubungan Antara Log Konsentrasi Dengan Probit %
Inhibisi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Maja

Dari data diatas dapat dinyatakan bahwa adanya kenaikan nilai probit dengan menghasilkan nilai $y = 0,237 x$ dan $r = 0,830$. Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dilakukan untuk mengetahui besarnya konsentrasi larutan uji ekstrak buah maja yang mampu menurunkan 50% absorbansi DPPH dibandingkan dengan larutan blangko. Nilai IC_{50} yang

diperoleh dari ekstrak buah maja yaitu 269,153 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Hasil tersebut termasuk aktivitas antioksidan sangat lemah.

Dari tabel 4.9 aktivitas antioksidan vitamin C dan tabel 4.10 aktivitas antioksidan ekstrak buah maja diketahui bahwa IC_{50} vitamin C adalah 3,412 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan sampel ekstrak buah maja adalah 269,153 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa daya aktivitas antioksidan ekstrak etanolik buah maja lebih kecil dibanding dengan daya aktivitas antioksidan vitamin C dengan menggunakan metode DPPH. Hal ini dikarenakan kadar vitamin C dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanolik buah maja lebih sedikit dibanding dengan vitamin C murni yang merupakan senyawa tunggal yang potensial sebagai antioksidan.

Menurut Phongpaichit,*et al.*, (2007), Suatu senyawa dikatakan sebagai antiradical bebas sangat kuat apabila nilai $\text{IC}_{50} < 10 \mu\text{g}/\text{mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 10-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan buah maja sangat lemah.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Buah maja mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan alkaloid, flavonoid, tanin serta saponin dan glikosida
2. Aktivitas antioksidan IC_{50} yang didapat pada ekstrak buah maja adalah 269,153 $\mu\text{g/ml}$

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka peneliti menyarankan :

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan metode yang berbeda dan tepat dengan suhu yang tidak tinggi saat pembuatan ekstrak buah maja.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut terkait pemanfaatan buah maja sebagai antioksidan serta mempelajari manakah senyawa aktif yang lebih dominan sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M.(2006).*Ilmu Meracik Obat*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Andriani. Y.Y., Rahmiyani. I., Amin. S., Lestari. T. (2016). Kadar Fenol Total Ekstrak Daun Dan Buah Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Tasikmalaya. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada Vol 15, No.1, Hal: 1-6
- Batutah, M.A. (2017). Distilasi Bertingkat Bioetanol dari Buah Maja (*Aegle marmelos L.*). *Jurnal IPTEK*, Vol.21, No.2.
- Bendra, A. (2012). Uji Antioksidan Ekstrak Daun Premna Oblongata Miq Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif. (skripsi), Jakarta, FMIPA, UI.
- Chavda N., Mujapara A., Mehta S.K and Dodia P.P. (2012). Primary Identification of Certain Phytochemical Constituents of *Aegle Marmelos* (L.) Corr. Serr Responsible for Antimicrobial Acticity Againts Selected Vegetable and Clinical Phatogen. *International Journal of Physical and Social Sciences*, (Online), Volume 2, Issue 6 : 194
- Departemen Kesehatan RI. (2014). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 5. Jakarta: Depkes RI, p441-448
- Desmiaty, Y., Ratih H., Dewi M.A., Agustin R. Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria bicolor Hassk.*) Secara Kolorimetri degan Pereaksi Biru Prusia. *Ortocarpus*. 2008. 8, 106-109.
- Ditjen POM. (2008). Farmakope Herbal Indonesia. Edisi Kesatu. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Firdiyani, F., Tri W.A. dan Widodo F.M. (2015). Ekstrasi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami Sprulina platensis segar Sengan Pelarit Yang Berbeda. *PHP* 2015: 18(1): 1-10.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2012). *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Gunawan, D., dan Sri, M. (2010). Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) jilid 1. Jakarta : Penebar Swadaya Hal: 106-120.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB.
- Hayati, E. K., Ghanaim, F. A., dan Lailis, S. (2010). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L.*). *Jurnal Kimia* 4 (2).
- Kumoro, Andri Cahyono. (2015). *Teknologi Ekstrasi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia.
- Latifah. 2015. *Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kampferia galangal L.* Dengan Metode DPPH (1-1 Difenil-2-Pikrilhidrazil)*. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.
- Lumbessy, M., Jemmy & Jessy, P. (2013). Uji Total Flavonoid pada beberapa

- tanaman obat tradisional didesa Waitina Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara. *Jurnal MIPA UNSRAT (Online)*. Vol. 2 No.1, hal 51.
- Markham, K.R., 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB. Bandung.
- Melinda. (2014). *Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (Lowsonia inermis L)*, Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Mukhriani. (2014). Ekstrasi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2).
- Nigam, V., dan V.S. Nambiar. (2015). Therapeutic Potential Of *Aegle marmelos* (L.) Correa Leaves As An Antioxidant And Antidiabetic Agent: A Review. *International Journal of Pharma Sciences and Research*. Vol. 6 (3); 611-621.
- Nurchayati, S. 2008. *Efektivitas Ekstrak Daun Mojo (aegle marmelos l.) Terhadap Kematian Aedes Aegypti Instar III*. Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- 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)*.
- Pandey, A., & Mishra, R. (2011). Antibacterial properties of *Aegle marmelos* leaves , fruits and peels against various pathogens. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*.
- Patil, D. N., Kulkarni, A. R., & Patil, B. S. (2010). Fruit gum of *Aegle marmelos* as pharmaceutical aid. *International Journal of Pharmacology*. <https://doi.org/10.3923/ijp.2010.68.71>
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., & Kirtikara, K. (2007). Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x>
- Putri, H. S. (2003). *Rasayana: Ayurvedic herbs for longevity and rejuvenation*. CRC Press.
- Raharjo, TJ. (2013). *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*, 9, 196-202.
- Robinson, T. (1995). Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI. Hal 191-216. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung.
- Rohmatussolihat. (2009). Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Bio Trends* Vol.4 No 1.
- Santoso, Puguh, And Putu Era Sandhi Kusuma Yuda. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etil Asetat Buah Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (Ccl₄). *Jurnal Ilmiah Medicamento* 2.2 : 28-33.
- Sastrawan IN, Sangi M, Kamu V. (2013). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Adas (*Foeniculu vulgare*) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains* 13(2): 112-115.

- Sugiyono. (2010). *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung : Alfabeta
- Simaremare, E. S. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*.
- 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 Cardiotonic Properties. *International Journal of Pharma Research & Review*, 3, 48–55.
- Williams, W. B., Cuvelier, M. E. C., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Iwt*, 28(1), 25–30.
- Yuhernita, J. (2011). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *MAKARA of Science Series*, 15(1), 48–52.
- Zuhra, C.F.; Juliati, B.T.; dan Herlince, S., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus*) (L) Merr.), *J. Bio*, 3(1): 7-10.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Perhitungan Rendemen

1. Perhitungan Prosentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah

Berat Basah = 1800 gram (y)

Berat Kering = 163,28 gram (x)

Berat Serbuk = 100 gram

$$\begin{aligned}\text{Prosentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah} &= \frac{x}{y} \times 100\% \\ &= \frac{163,28 \text{ gram}}{1800 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 9,07 \%\end{aligned}$$

2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Buah Maja

a. Berat sampel = 100 gram (x)

b. Berat cawan kosong = 80,07 gram (a)

c. Berat cawan + isi = 116,76 gram (b)

d. Berat Ekstrak = b - a

$$= 116,76 \text{ gram} - 80,07 \text{ gram}$$

$$= 36,69 \text{ gram (y)}$$

e. Rendemen Ekstrak = $\frac{y}{x} \times 100\%$

$$= \frac{36,69 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 36,69 \%$$

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

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

2. Perhitungan Nilai Rf dan HRf

a. $R_f = \frac{4,1}{8} = 0,512$

b. $HR_f = 0,512 \times 100$
 $= 51,2$

Lampiran 3

Pembuatan Larutan Seri

1. Pembuatan Larutan DPPH (39 ppm)

Keterangan :

m = Massa

v = Volume

$$\begin{aligned} \text{ppm} &= \frac{m}{v} \\ &= \frac{3,9 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \\ &= 0,039 \text{ mg/ml} \\ &= 39 \text{ ppm} \end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan Uji Sampel

$$\begin{aligned} \text{ppm} &= \frac{m}{v} \\ &= \frac{0,1 \text{ g}}{50 \text{ ml}} \\ &= 0,002 \text{ g/ml} \\ &= 2 \text{ mg/ml} \\ &= 2000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

$$\begin{aligned}\text{ppm} &= \frac{m}{v} \\ &= \frac{0,05 \text{ g}}{50 \text{ ml}} \\ &= 0,001 \text{ g/ml} \\ &= 1 \text{ mg/ml} \\ &= 1000 \text{ ppm}\end{aligned}$$

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

Keterangan :

V_1 = Volume yang dibutuhkan

V_2 = Volume larutan yang dibuat

M_1 = Konsentrasi larutan induk

M_2 = Konsentrasi pengenceran

$$10 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

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

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

$$20 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

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

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

$$40 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

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

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

$$80 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

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

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

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

$$100 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 2000 = 100 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1000}{2000} = 0,5 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$150 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 2000 = 150 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1500}{2000} = 0,75 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

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

$$V_1 \cdot 2000 = 200 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2000}{2000} = 1 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$250 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 2000 = 250 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2500}{2000} = 1,25 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

$$300 \text{ ppm} \Rightarrow V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 2000 = 300 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{3000}{2000} = 1,5 \text{ ml ad methanol 10 ml}$$

Lampiran 4
Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

1. Perhitungan %Inhibisi

a. Ekstrak Buah Maja

Perhitungan nilai % inhibisi :

$$100 \text{ ppm} = \frac{(\text{Rata-rata larutan kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,273 - 0,680}{1,273} \times 100\%$$

$$= 46,569 \%$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,273 - 0,679}{1,273} \times 100\%$$

$$= 46,647 \%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,273 - 0,658}{1,273} \times 100\%$$

$$= 48,324 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,273 - 0,640}{1,273} \times 100\%$$

$$= 49,739 \%$$

$$300 \text{ ppm} = \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,273 - 0,618}{1,273} \times 100\%$$

$$= 51,467\%$$

b. Vitamin C

Perhitungan nilai %inhibisi :

$$10 \text{ ppm} = \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,318 - 0,372}{1,318} \times 100\%$$

$$= 71,76 \%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,318 - 0,353}{1,318} \times 100\%$$

$$= 73,25\%$$

$$\begin{aligned}
40 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{1,318 - 0,293}{1,318} \times 100\% \\
&= 77,75 \%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
80 \text{ ppm} &= \frac{(\text{Rata-rata kontrol}) - (\text{Rata-rata larutan sampel})}{\text{Rata-rata larutan kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{1,318 - 0,104}{1,318} \times 100\% \\
&= 92,11\%
\end{aligned}$$

2. Perhitungan IC₅₀

Rumus : $y = ax + b$

a. Ekstrak Buah Maja

$$y = 0,237x + 4,424$$

$$5 = 0,237x + 4,424$$

$$5 - 4,424 = 0,237x$$

$$x = \frac{0,576}{0,237}$$

$$\log C = 2,43$$

$$\begin{aligned}C &= \text{antilog } 2,43 \\ &= 269,153 \mu\text{g/ml}\end{aligned}$$

b. Vitamin C

$$Y = 0,900x + 4,520$$

$$5 = 0,900x + 4,520$$

$$5 - 4,520 = 0,900x$$

$$x = \frac{0,48}{0,900}$$

$$\log C = 0,533$$

$$C = \text{antilog } 0,533$$

$$= 3.412\mu\text{g/ml}$$

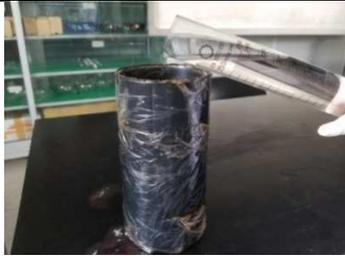
Lampiran 5

Dokumentasi Penelitian

Gambar	Keterangan
	Pengambilan sampel buah maja
	Pemisahan daging buah dengan kulitnya
	Daging buah maja dijemur dengan sinar matahari dengan ditutupi kain hitam
	Simplisia Buah Maja



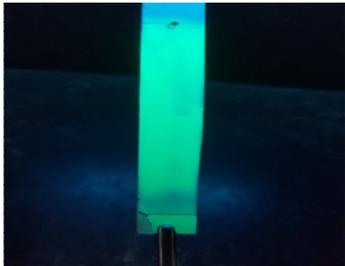
Penimbangan serbuk simplisia buah
maja



Proses maserasi simplisia buah maja



Penimbangan ekstrak buah maja



Uji Kromatografi Lapis Tipis



Larutan DPPH



Larutan Vitamin C



Larutan ekstrak buah maja



Larutan seri vitamin c



Larutan seri ekstrak buah maja



Spektrofotometri UV-Vis



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

Kampus 1 : Jl. Mataram No. 9 Tegal 52142 Telp. 0283-352000 Fax. 0283-353353
Website : www.poltektegal.ac.id Email : farmasi@poltektegal.ac.id

No : 004.06/FAR.PHB/II/2021
Hal : Keterangan Praktek Labororium

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Muhammad Nur Fauzi
NIM : 18080165
Judul KTI : Ekstraksi dan Uji Kandungan Antioksidan Buah Maja dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Benar – benar telah melakukan penelitian di Labororium DIII Farmasi PoliTeknik Harapan Bersama Tegal.
Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 2 Februari 2021
Mengetahui,

Ketua Panitia KTI


Kusnadi, M.Pd
NIPY. 04.015.217


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

CURICULUM VITAE



Nama : Muhammad Nur Fauzi
NIM : 18080165
Jenis kelamin : Laki-laki
TTL : Tegal, 24 Desember 1999
Alamat : Jl. A. R. Hakim no. 06 Rt 07/01 Mangkukusuman Tegal
No. tlp/HP : 087828484583
Riwayat Pendidikan :
SD : SD Muhammadiyah 1 Tegal
SMP : SMPN 14 Tegal
SMK : SMAN 2 Tegal
DIII : Politeknik Harapan Bersama Kota Tegal
Nama Ayah : Bambang Surya
Nama Ibu : Yeti Murdiani
Pekerjaan Ayah : Pegawai Negeri Sipil (Pensiunan)
Pekerjaan Ibu : Pegawai Negeri Sipil
Alamat : Jl. A. R. Hakim no. 06 Rt 07/01 Mangkukusuman Tegal
Judul penelitian : Ekstraksi Dan Uji Kandungan Antioksidan Buah Maja
(Aegle marmelos (L.) Corr. Dengan Metode
Spektrofotometri UV-Vis