

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR EKSTRAK
ETANOL DAUN SAWO KECIK (*Manilkara kauki* (L.) Dubard)
DENGAN METODE ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazaline)-
6-sulfonic acid) SERTA PENETAPAN KADAR TANIN**

SKRIPSI



Diajukan Oleh :

Naimah Yakoh

165010055

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
Oktober 2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR EKSTRAK
ETANOL DAUN SAWO KECIK (*Manilkara kauki* (L.) Dubard)
DENGAN METODE ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazaline)-
6-sulfonic acid) SERTA PENETAPAN KADAR TANIN**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim**

Diajukan Oleh :

Naimah Yakoh

165010055

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
Oktober 2020**

INTISARI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR EKSTRAK ETANOL DAUN SAWO KECIK (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) DENGAN METODE ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazaline)-6-sulfonic acid) SERTA PENETAPAN KADAR TANIN

Daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) mengandung banyak senyawa kimia yaitu saponin, flavonoid, polifenol dan tanin. Kandungan dalam daun sawo kecil terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menghambat pertumbuhan penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard), serta penetapan kadar tanin.

Serbuk simplisia daun sawo kecil diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 5 hari. Maserasi 3 hari dan remaserasi 2 hari dengan pelarut etanol 96%, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental dan difraksinasi sampai mendapatkan fraksi air. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan ABTS dengan pembanding trolox, kemudian serapannya dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 744.20 nm. Hasil yang didapat dihitung menggunakan regresi linear untuk penentuan nilai IC_{50} . Pembanding untuk kadar tanin total adalah asam tanat yang direaksikan dengan pereaksi Folin Ciocalteu, kemudian serapannya dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 700,60 nm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 114.039 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan sedang, dan memiliki kadar tanin total sebesar 320.061 mgTE/gram ekstrak.

Kata Kunci : Antioksidan, Sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard), ABTS, Trolox, Tanin total.

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF WATER FRACTION OF SAWO KECIK (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) LEAF ETHANOL WITH ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazaline)-6-sulfonic acid) METHOD AND DETERMINATION OF TOTAL TANIN CONTENT

sawo kecik (Manilkara kauki (L.) Dubard) leaf contain many chemical compounds, such as saponins, flavonoids, polyphenols and tannins. The content in sawo kecik leaf is proven to have antioxidant activity that can inhibit the growth of degenerative diseases. This study aims to determine the antioxidant activity of the water fraction of the ethanol extract of sawo kecik (Manilkara kauki (L.) Dubard) leaf, as well as the determination of tannin content.

Simplisia powder of sawo kecik leafm was extracted by the maceration method for 5 days. for 3 days maceration and 2 days remaceration with 96% ethanol solvent, then concentrated using a rotary evaporator until a thick extract was obtained and fractionated to get the water fraction. Antioxidant activity tested using ABTS with trolox comparators, , read with breakfast its absorbance using UV-Vis spectrophotometric method at a wavelength of 744.20 nm. The results obtained and then calculated using linear regression to determine the IC₅₀ value. The comparison for total tannin content was tannic acid which reacted with Folin Ciocalteu, and read its absorbance was measured using UV-Vis spectrophotometric method at a wavelength of 744.20 nm.on a UV-Vis spectrophotometer with a wavelength of 700.60 nm.

The results showed that the water fraction of the ethanol extract of sawo kecik leaves had antioxidant activity with an IC₅₀ value of 114.0.39 ppm which was classified as included in the a moderate antioxidant category, and it had a total tannin level of 320.061 mgTE / g extract.

Keywords: *Antioxidant activity, Sawo kecik (Manilkara kauki (L.) Dubard), ABTS, Trolox, Total tannin*

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR EKSTRAK
ETANOL DAUN SAWO KECIK (*Manilkara kauki* (L.) Dubard)
DENGAN METODE ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazaline)-
6-sulfonic acid) SERTA PENETAPAN KADAR TANIN**

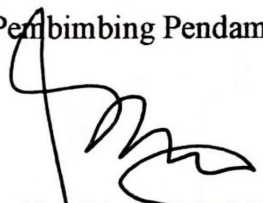
oleh:
Naimah Yakoh
165010055

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal: 15 Oktober 2020**

Pembimbing Utama,


(Dr. apt. Sumantri, M.Sc.)

Pembimbing Pendamping,


(apt. Junvidya Heroweti, S.Farm, M.P.H.)

Mengetahui:
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Dekan,




(apt. Agnes Budiarti, SF., M.Sc)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Naimah Yakoh

NIM : 165010055

Judul Skripsi : Uji aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) dengan metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazaline)-6-sulfonic acid) serta penetapan kadar tanin.

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah skripsi saya dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian surat pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 15 Oktober 2020



Naimah Yakoh

PERSEMBAHAN

“Dan apa yang kamu kerjakan berupa kebaikan, niscaya Allah mengetahuinya.

Berebekallah, dan sesungguhnya sebaik baik bekal adalah taqwa, dan bertaqwallah kepada-Ku wahai orang-orang yang berakal.(QS.Al Baqoroh:197)

Kupersembahkan untuk:

Kedua orang tua sebagai wujud hormat dan baktiku

Almamater sebagai wujud terima kasih dan khidmah

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah swt atas segala karunia, nikmat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Uji aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) dengan metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazaline)-6-sulfonic acid) serta penetapan kadar tanin”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat untuk dapat menyelesaikan program studi Farmasi Strata 1 (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang sudah membimbing, mengarahkan dan mendukung jalannya penelitian dan penyusunan skripsi. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Ibu apt. Aqnes Budiarti, M.Sc. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
2. Bapak Dr. apt. Sumantri, M.Sc. selaku dosen pembimbing utama yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasihat motivasi dalam proses penelitian maupun penyusunan skripsi.
3. Ibu apt. Junvidya Heroweti, S.Farm.,M.P.H. selaku dosen pembimbing kedua yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasihat motivasi dalam proses penelitian maupun penyusunan skripsi.
4. Ibu Anita Dwi Puspitasari, M.Pd. selaku dosen penguji pertama yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan masukan, nasihat, saran serta motivasi dalam proses penelitian maupun penyusunan skripsi.

5. Bapak Drs. apt. Ibrahim Arifin, M.Sc. selaku dosen penguji kedua yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan masukan, nasihat, saran serta motivasi dalam proses penelitian maupun penyusunan skripsi.
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah bersedia mengajarkan pengetahuan sebagai ilmu dasar dalam melakukan penelitian skripsi ini.
7. Seluruh Staf Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah mengizinkan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian di laboratorium.
8. Keluarga-keluarga bapak Abdulkhoder Yakoh, ibu Raqiyah Mahasae, dan adekku Fatimah Yakoh yang selalu disamping dan memberikan semangat.
9. Sahabatku Kharisma Fiantika, Risma Hidayah, Iftisan Kani, Muhamad Joko susilo, Ghazia Najihan N, Putri Nur H, Iqbal Muhammad N, Nuriyah, Hanik Rohmatul M, Anis Nor Aini, Devi Lusiana, yang selalu memberikan dukungan, Motivasi, dan semangat.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu sehingga skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang antioksidan.

Semarang, 15 Oktober 2020



Penulis

DAFTAR ISI

INTISARI	ii
ABSTRACT	iii
.....	iv
PENGESAHAN SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN	v
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
E. Tinjauan Pustaka	4
1. Tanaman sawo kecil (<i>Manilkara kauki</i> (L.) Dubard)	4
2. Khasiat dan kandungan tanaman	5
3. Ekstraksi	5
4. Fraksinasi.....	5
5. Radikal bebas.....	6
6. Antioksidan.....	6
7. Senyawa tanin.....	7
8. Metode ABTS	8
9. Spektrofotometri UV-Vis	9
F. Landasan Teori.....	10
G. Hipotesis	11
BAB II. METODE PENELITIAN	12
A. Bahan dan Alat yang Digunakan.....	12
1. Bahan.....	12
2. Alat	12
B. Jalannya Penelitian.....	13

1. Pengumpulan Bahan.....	13
2. Determinasi tanaman	13
3. Pembuatan serbuk simplisia	13
4. Pembuatan ekstrak etanol daun sawo kecil	14
5. Fraksinasi ekstrak etanol daun sawo kecil.....	15
6. Uji skrining fitokimia identifikasi tanin	16
7. Uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS	17
8. Uji penetapan kadar tanin total.....	20
C. Analisis Data	23
BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	25
A. Determinasi Tanaman	25
B. Pembuatan Serbuk Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun sawo kecil.....	25
C. Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Sawo Kecil.....	26
D. Uji Skrining Fitokimia identifikasi tanin	27
E. Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode ABTS	28
F. Penentuan Kadar Tanin Total Fraksi Air	35
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN	41
A. Kesimpulan.....	41
B. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel I. Hasil skrining fitokimia fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil.	27
Tabel II. Penetapan aktivitas antioksidan trolox	32
Tabel III. Penetapan aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil.....	33
Tabel IV. Nilai IC ₅₀ trolox dengan FAEEDSK	34
Tabel V. Kurva baku asam tanat	38
Tabel VI. Hasil penetapan kadar tanin total.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun sawo kecil (Kumaro, 2013).....	4
Gambar 2. Struktur senyawa tanin (Noer dkk., 2018)	8
Gambar 3. Reaksi oksidasi ABTS oleh kalium persulfat menghasilkan ABTS kation radikal dan reaksinya dengan senyawa antiradikal (Oliveira, dkk., 2014).....	8
Gambar 4. Skema proses fraksinasi cair-cair	16
Gambar 5. Skema jalannya penelitian	23
Gambar 6. Grafik pengukuran panjang gelombang maksimum dan absorbansi larutan ABTS.....	28
Gambar 7. Grafik hasil <i>operating time</i> larutan baku standar ABTS dengan trolox	29
Gambar 8. Data hasil pengukuran panjang gelombang maksimum dan absorbansi asam tanat	36
Gambar 9. Grafik hasil <i>operating time</i> larutan baku standar asam tanat	37
Gambar 10. Grafik kurva baku asam tanat.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil determinasi tanaman sawo kecil	48
Lampiran 2.	Perhitungan rendemen Simplisia, ekstrak dan fraksi air	51
Lampiran 3.	Perhitungan penimbangan larutan ABTS 7,31 mM dan $K_2S_2O_8$ mM	53
Lampiran 4.	Pembuatan seri konsentrasi larutan asam tanat	54
Lampiran 5.	Pembuatan larutan induk trolox.....	56
Lampiran 6.	Pembuatan seri konsentrasi fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecik	58
Lampiran 7.	Pembacaan absorbansi larutan trolox dan fraksi air	62
Lampiran 8.	Hasil perhitungan nilai IC_{50} trolox dan sampel fraksi air	65
Lampiran 9.	Hasil pembacaan absorbansi larutan asam tanat.....	67
Lampiran 10.	Perhitungan kadar tanin total fraksi air.....	71
Lampiran 11.	Dokumentasi penelitian	73
Lampiran 12.	Surat keterangan telah menyelesaikan penelitian	77

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit degeneratif merupakan penyakit yang disebabkan oleh penurunan fungsi sel, jaringan, dan organ tubuh seiring dengan bertambahnya usia seseorang, beberapa di antaranya yaitu kanker, jantung dan stroke (Barasi, 2009). Pemicu utama terjadinya penyakit degeneratif yaitu karena adanya radikal bebas berlebih di dalam tubuh sehingga menyebabkan kerusakan di berbagai bagian sel (Kosasih dkk., 2006). Radikal bebas berada di dalam tubuh karena adanya hasil dari proses terjadinya oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, dan terpapar polusi dari luar tubuh seperti asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, industri dan radiasi matahari, radikal bebas yang berlebih dari hasil metabolisme lemak dan protein yang tersimpan di dalam tubuh karena kurangnya asupan antioksidan dari luar tubuh (Parwata, 2016).

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh (Raharjo, 2005). Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk mengikat radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa antioksidan memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa mengubah fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Parwata, 2016).

Sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) merupakan salah satu tanaman dari famili *Sapotaceae* yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, akar dan kulit kayu dapat digunakan untuk mengobati diare pada anak-anak, biji dapat

digunakan untuk obat penurun panas, obat cacing (Khare, 2007). Menurut penelitian sebelumnya Kumaro (2013), membuktikan bahwa uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sawo kecik dengan menggunakan metode DPPH menghasilkan nilai IC_{50} adalah sebesar $5,00 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa daun sawo kecik merupakan antioksidan sangat kuat.

Metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah metode ABTS, DPPH, FRAP, dan FIC. Empat metode uji antioksidan dibedakan berdasarkan pada jenis mekanisme reaksinya, sedangkan pada kali ini ingin mengukur jumlah radikal bebas yang dapat ditangkal oleh antioksidan sampel. Metode ABTS merupakan metode pengujian untuk mengukur jumlah radikal bebas yang dapat ditangkal oleh antioksidan yang dikenal dengan aktivitas antioksidan. Selain memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, kelebihan ABTS dibandingkan dengan metode DPPH yaitu pengujiannya sederhana, efektif, cepat, dan mudah diulang (Serlahwaty dan Sevian, 2016).

Pengujian dilakukan dengan metode ABTS dengan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan antara DPPH dan ABTS memiliki perbedaan dalam mekanisme reaksinya. Uji DPPH kemampuan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen, sedangkan pada uji ABTS mampu meredam radikal bebas untuk mengukur jumlah radikal bebas yang dapat ditangkal oleh antioksidan yang dikenal dengan aktivitas antioksidan dengan ditandai berkurangnya intensitas warna biru dari larutan ABTS yang telah ditambahkan dalam sampel (Fitriana dkk., 2015). Mekanisme kerja ABTS merupakan suatu radikal ABTS dapat diproduksi dengan cara oksidasi kalium

persulfat sebelum penambahan antioksidan. ABTS merupakan radikal dengan pusat nitrogen dengan karakteristik warna biruhijau, ketika tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk non radikal yang tidak berwarna (Shalaby dan Shanab, 2013).

Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini bertujuan untuk melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) fraksi air yang belum dilakukan penelitian sebelumnya menggunakan metode ABTS dan penetapan kadar tanin.

B. Rumusan Masalah

1. Berapakah nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard)?
2. Berapakah kadar tanin total pada fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard).
2. Mengetahui kadar senyawa tanin total pada fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard).

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat menambah bukti ilmiah mengenai aktivitas antioksidan fraksi air serta kandungan senyawa tanin total pada daun sawo kecil sehingga dapat dimanfaatkan secara luas.

E. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard)

Tanaman Sawo Kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) biasanya tumbuh didaerah pesisir pada ketinggian sampai dengan 500 m dengan curah hujan tahunan berkisar antara 1500 – 3600 mm dan 0-6 bulan musim kering. *Manilkara kauki* mempunyai ukuran pohon yang medium dengan ketinggian dapat mencapai 25 m memiliki diameter 100 cm dan memiliki banyak cabang, tebal, dan memiliki pohon seperti mahkota bulat (Hardiyanto, 2008). Daun sawo kecil dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Daun sawo kecil (Kumaro, 2013)

Klasifikasi daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) :

- Kingdom : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Class : Magnoliopsida
- Ordo : Ericales
- Family : *Sapotaceae*
- Genus : *Manilkara*
- Species : *Manilkara kauki* (L.) Dubard (Backer dan Brink, 1963).

2. Khasiat dan kandungan tanaman

Manfaat tanaman sawo kecil sebagai obat tradisional, akar dan kulit kayu dapat digunakan untuk mengobati diare pada anak-anak, biji dapat digunakan untuk obat penurun panas, dan obat cacing (Khare, 2007). Kandungan senyawa pada ekstrak daun sawo kecil menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin (Sari dkk., 2015).

3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Depkes, 2000). Ekstraksi biasanya menggunakan pelarut-pelarut organik dan air. Bahan yang akan diekstrak biasanya dalam bentuk bahan kering yang sudah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia (Sembiring dkk., 2007).

Maserasi merupakan Metode ekstraksi yang paling sederhana. Walaupun demikian, metode ini masih secara luas digunakan karena beberapa keuntungan misalnya biaya yang murah, peralatan yang sederhana, serta tanpa perlakuan panas sehingga menjadi pilihan tepat untuk ekstraksi senyawa-senyawa yang tidak tahan panas (*termolabile*) (Nugroho, 2017).

4. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan komponen suatu ekstrak menjadi kelompok-kelompok senyawa yang memiliki kemiripan karakteristik secara kimia (Day dan Underwood, 2001). Fraksinasi dengan *liquid-liquid extraction* merupakan pemisahan kelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah

ekstrak yang telah dilarutkan dalam suatu pelarut dengan cara menambahkan jenis pelarut n-heksan dan kloroform akan memiliki sifat yang berbeda dan pelarut kedua tidak dapat bercampur (*immiscible*). Fraksinasi dengan metode ini umumnya dilakukan menggunakan corong pisah (Nugroho, 2017).

5. Radikal bebas

Radikal bebas merupakan molekul, atom atau gugus yang memiliki satu elektron yang tidak berpasangan, pada elektron tersebut dapat menyebabkan molekul sangat reaktif mencari pasangan elektron. Molekul reaktif yang mengandung oksigen disebut *reactive oxygen species* (ROS) dan yang mengandung nitrogen disebut *reactive nitrogen species* (RNS). Radikal bebas memiliki banyak jenis namun paling banyak terdapat dalam sistem biologis tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). Reaksi – reaksi radikal di dalam tubuh merupakan penyebab atau mendasari berbagai keadaan patologi suatu penyakit. Diantara senyawa-senyawa ROS, radikal hidroksil (-OH) merupakan radikal bebas yang paling reaktif atau berbahaya karena mempunyai tingkat reaktivitas sangat tinggi (Parwata, 2016).

6. Antioksidan

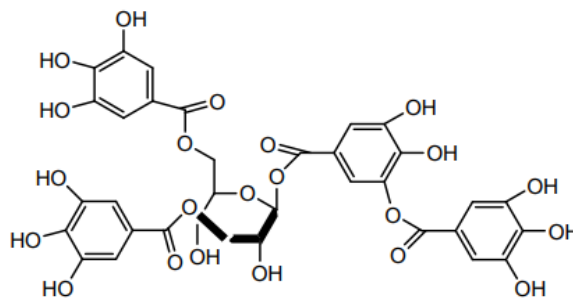
Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan

antioksidan penting dalam melawan radikal bebas, tetapi dalam kapasitas berlebih menyebabkan kerusakan sel (Parwata, 2016).

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200 $\mu\text{g/mL}$ (Molyneux, 2004). IC_{50} merupakan konsentrasi dari antioksidan yang dapat meredam atau menghambat 50% radikal bebas (Pambudi dkk., 2012). Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas penangkapan radikal ABTS (Vifta dkk, 2019).

7. Senyawa tanin

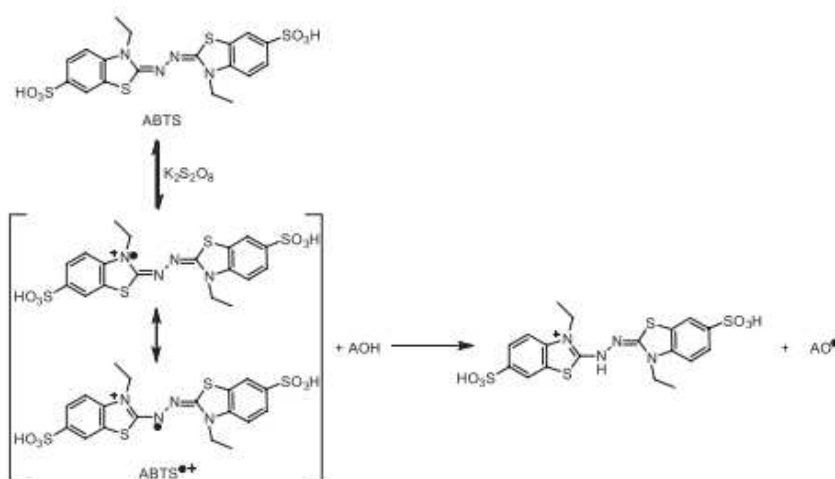
Tanin merupakan senyawa terbentuk kompleks dari protein, pati, selulosa dan mineral. Tanin memiliki struktur dengan formula empiris $C_{72}H_{52}O_{46}$. Tanin bermanfaat sebagai bahan pembuatan adsorben yang baik. Tanin juga dapat digunakan sebagai perekat (sebagai pengganti fenol dalam formulasi), medis, kosmetik, farmasi, adsorben logam berat dan makanan aplikasi industri (Bacelo dkk., 2016). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002). Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur senyawa tanin (Noer dkk., 2018)

8. Metode ABTS

Metode ABTS memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain, yaitu pengujian sederhana, mudah diulang, menggunakan alat yang sederhana dan yang paling penting adalah fleksibel serta dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik dalam ekstrak makanan dan cairan. Metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi dibandingkan DPPH, prosesnya cepat, dapat dilakukan pada rentang pH yang besar serta dapat digunakan pada sistem larutan berbasis air maupun organik (Puspitasari, dan Sumantri, 2019).



Gambar 3. Reaksi oksidasi ABTS oleh kalium persulfat menghasilkan ABTS kation radikal dan reaksinya dengan senyawa antiradikal (Oliveira, dkk., 2014)

9. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran absorpsi energi cahaya oleh atom atau molekul dari suatu zat kimia. Teknik yang banyak digunakan dalam analisis farmasi yaitu spektroskopi serapan utama violet, cahaya tampak, inframerah dan serapan atom. Pengukuran spektrofotometri pada daerah cahaya tampak, dapat disebut kolorimetri, tetapi istilah kolorimetri lebih baik digunakan pada persepsi tentang warna (Depkes, 2014).

Prinsip kerja spektrofotometer adalah bila cahaya (monokromatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan, sebagian diserap dalam medium itu, dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Batasan dalam hukum Lambert-Beer yaitu sinar yang digunakan dianggap monokromatis, penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama, senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain, tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforesensi serta indeks tergantung pada konsentrasi larutan (Gandjar dan Rochman, 2007).

F. Landasan Teori

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal bebas didalam tubuh manusia. Penelitian sebelumnya Kumaro (2013), membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sawo kecil menghasilkan antioksidan dengan adanya bercak berwarna kuning setelah disemprot dengan pereaksi DPPH. Warna kuning menunjukkan adanya aktivitas antioksidan, dengan nilai IC_{50} adalah sebesar $5,00 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa daun sawo kecil merupakan antioksidan sangat kuat ($< 50 \mu\text{g/mL}$) (Kumaro, 2013).

Tanaman sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) merupakan salah satu tanaman dari famili *Sapotaceae* yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, akar dan kulit kayu dapat digunakan untuk mengobati diare pada anak-anak, biji dapat digunakan untuk obat penurun panas, obat cacing (Khare, 2007). Berdasarkan uji kualitatif kandungan senyawa pada daun sawo kecil menunjukkan hasil positif adanya saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin (Sari dkk., 2015). Tanin merupakan senyawa dari golongan polifenol yang bersifat polar sehinga larut dalam pelarut polar, dan tanin berfungsi sebagai antioksidan (Romadanu dkk., 2014). Hasil skrining fitokimia, menurut Sari, dkk., 2015 menunjukkan bahwa daun sawo kecil mengandung senyawa tanin setelah ditambah FeCl_3 1% dengan berubah warna menjadi hijau kehitaman (Sari dkk., 2015). Fraksi air tanaman rumput bambu dapat menarik senyawa tanin 5 golongan yaitu catechin, Ellagic-acid-glucoside-2-ethyl-3,4,5-trimethyl-tetrahydrofuran, Ellagic Acid-Gallic Acid Galloyl, trigalloyl (2R,3R)-tetrahydro-2H-pyran-2,4,5-tetraol dan Triagalloy-diglucose (Firdaus, 2020).

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori, hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) memiliki aktivitas antioksidan (IC_{50}).
2. Fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) memiliki kadar tanin total tertentu.

BAB II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat yang Digunakan

1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) yang didapat dari kelurahan Sampangan kecamatan Gajah Mungkur, Semarang Jawa Tengah. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96% teknis, Bahan yang digunakan untuk fraksinasi adalah pelarut *n*-heksan, etil asetat dan aquades. Bahan yang digunakan untuk penentuan kadar tanin total adalah pereaksi Folin-Ciocalteu, Asam tanat, Na₂CO₃ (Natrium karbonat), Gelatin 10%, Etanol p. a. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah ABTS (2,2- Azinobis (3-Ethylbenzothiazoline)-6-Sulfonic Acid) p.a (Merck), trolox (Sigma) kalium persulfat (K₂S₂O₈) dan etanol p.a. (Merck).

2. Alat

Seperangkat alat ekstraksi yang terdiri dari alat gelas (Iwaki Pyrex), seperangkat alat maserasi, mesin penyerbuk, timbangan elektrik (Ohaus), *moisture balance* (Ohaus), vakum, corong buchner, almari pengering, penguap vakum putar (Heidolph), desikator. Seperangkat alat fraksinasi yang terdiri dari alat gelas (Iwaki Pyrex), klem dan statif. Alat penetapan kadar flavonoid dan uji aktivitas antioksidan adalah seperangkat alat gelas (Iwaki Pyrex), Spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadzu), dan mikropipet.

B. Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan bahan

Tanaman sawo kecil yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daunnya. Pemilihan daun sawo kecil dengan kriteria berwarna hijau tua dan tidak ada bercak kuning, dan tidak terdapat bintik putih di sekitar daun.

2. Determinasi tanaman

Determinasi dilakukan untuk mengetahui identitas tumbuhan yang digunakan pada penelitian yaitu daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard). Determinasi tanaman sawo kecil dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro Semarang.

3. Pembuatan serbuk simplisia

Daun sawo kecil yang sudah diambil dari pohon dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari tumbuhan dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu, sehingga didapatkan herba yang layak untuk digunakan (Rivai dkk., 2014). Pencucian dilakukan dengan air bersih atau air mengalir. Agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari tumbuhan tersebut pencucian dilakukan dalam waktu sesingkat mungkin (Rivai dkk., 2014). Cara pengeringan dilakukan dengan oven pada suhu 50° C sampai kering ditandai dengan daun sawo kecil yang sudah bisa diremah. Pemisahan dengan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing misalnya bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih tertinggal pada simplisia kering (Rivai dkk., 2014). Persyaratan kadar

air pada simplisia yaitu kurang dari 10%. Serbuk simplisia diberi silika gel untuk menjaga agar tidak terlalu lembab dan disimpan di tempat yang tidak terkena sinar matahari secara langsung supaya tidak terjadi kerusakan atau dekomposisi pada kandungan senyawanya. Proses penyimpanan dilakukan dalam toples kaca atau dalam wadah kaca yang bersih (Depkes RI, 1986).

4. Pembuatan ekstrak etanol daun sawo kecil

Serbuk simplisia daun sawo kecil sebanyak 750 gram dimasukkan ke dalam toples, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 5625 mL lalu ditutup rapat dihindarkan dari sinar matahari. Proses perendaman selama 3 hari sambil diaduk 2 kali sehari. Setelah 3 hari, campuran simplisia dan etanol diserkai sehingga diperoleh maserat (1). Ampas direndam kembali dengan 1875 mL etanol selama 2 hari, disaring kembali dan diperoleh maserat (2). Maserat (1) dan (2) didiamkan semalam, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50° C dengan kecepatan 60 rpm sampai diperoleh ekstrak kental etanol 96% (Puspitasari dan Proyogo, 2017).

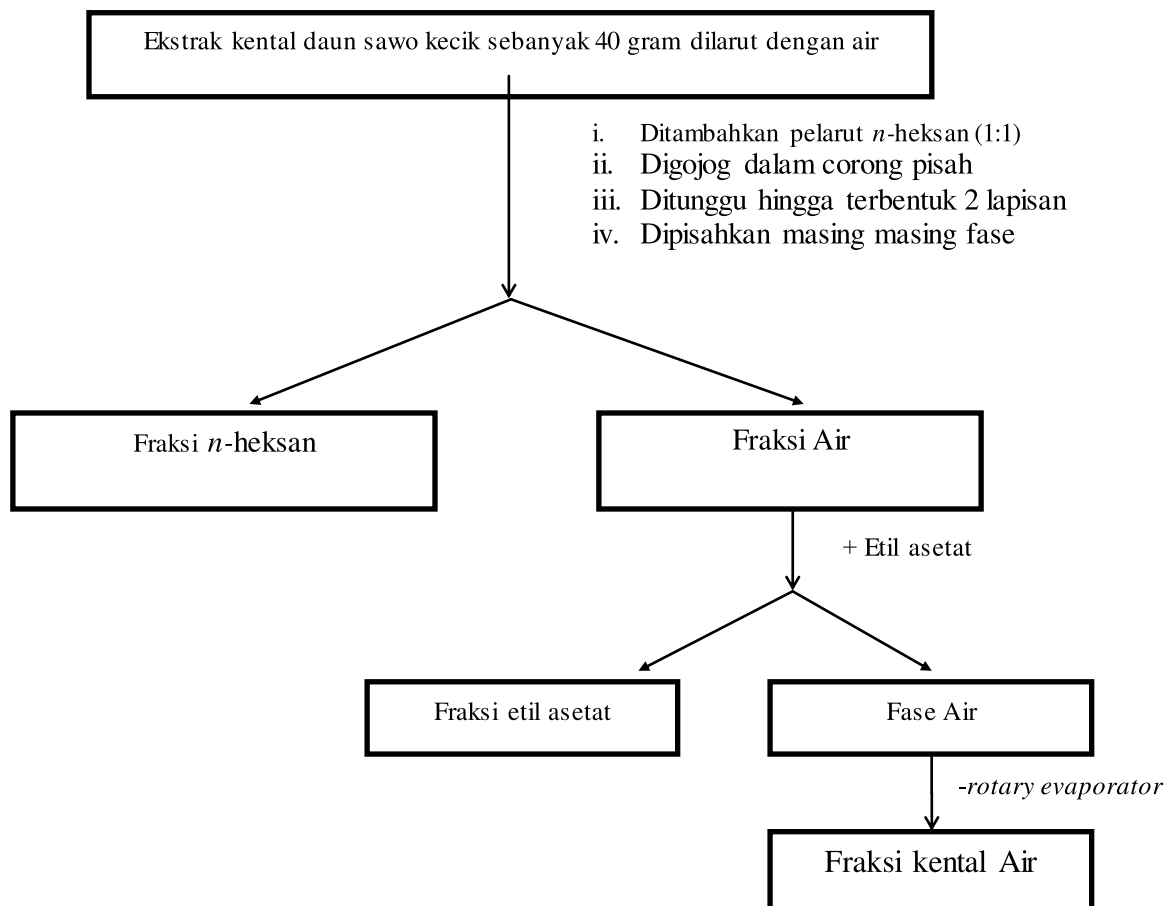
Nilai rendemen ekstrak etanol daun sawo kecil dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot bahan yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Ekstrak kental ditimbang dan dimasukkan dalam gelas yang dilapisi kertas gelap kemudian disimpan dalam desikator untuk mempertahankan kualitas fisik dan kestabilan kandungan senyawa aktif sehingga memenuhi persyaratan mutu (Depkes RI, 1986).

5. Fraksinasi ekstrak etanol daun sawo kecil

Fraksinasi ekstrak etanol daun sawo kecil dilakukan secara partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstrak etanol daun sawo kecil difraksinasi sebanyak dua kali dengan berat ekstrak masing-masing sebanyak 20 g sehingga berat total ekstrak yang difraksinasi sebanyak 40 gram, masing-masing ekstrak kental tersebut dilarutkan dalam 200 mL air dan dimasukkan kedalam corong pisah. Kemudian ekstrak tersebut ditambahkan masing-masing 200 mL *n*-heksan dalam corong pisah. Campuran digojog kuat, dibiarkan beberapa saat hingga terbentuk 2 fase dan fase-fase tersebut dipisahkan, fase yang atas merupakan fase *n*-heksan dan fase yang bawah merupakan fase air. Sisa fase air dimasukkan kembali kedalam corong pisah, ditambahkan 200 mL pelarut *n*-heksan dan digojog kembali serta dibiarkan beberapa saat hingga terjadi pemisahan kembali. Dilakukan cara yang sama hingga fase *n*-heksan yang diperoleh jernih (tersari sempurna) kemudian fase air dimasukkan kembali kedalam corong pisah dan di ganti pelarut etil asetat dengan cara yang sama pada saat di lakukan fraksinasi *n*-heksan hingga fase etil asetat yang diperoleh jernih (tersari sempurna), fase yang diambil yang bawah adalah fase air dikarena dengan berat jenis *n*-heksan adalah 0,670 – 0,677 g/ml, berat jenis air adalah 0,996 g/cm³ dan berat jenis etil asetat adalah 0,898 mL. Hasil fraksinasi fase air yang didapat diuapkan menggunakan penguap vakum putar pada suhu 50⁰ C.



Gambar 4. Skema proses fraksinasi cair-cair

6. Uji skrining fitokimia identifikasi tanin

Uji skrining tanin dilakukan dengan sampel (fraksi air) sebanyak 20 mg ditambah etanol sampai sampel larut semuanya, menggunakan dua tabung reaksi yang masing-masing tabung berisi sampel sebanyak 2 mL. Tabung pertama ditetesi FeCl_3 sebanyak satu atau dua tetes, Apabila warnanya berubah menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin. Tabung kedua ditambahkan larutan gelatin 10% apabila terbentuk endapan putih maka positif mengandung tanin (Makalalag, 2011).

7. Uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS

a. Pembuatan larutan ABTS

Pembuatan larutan stok ABTS dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 100 mg serbuk ABTS (7,31 mM) dan menimbang sebanyak 165,6 mg serbuk kalium persulfat $K_2S_2O_8$ (2,45 mM). Kemudian masing-masing dilarutkan menggunakan etanol p.a. Kedua larutan tersebut dicampurkan dengan perbandingan volume 1:1, Kemudian labu takar dibungkus dengan aluminium foil. Larutan ABTS diinkubasi selama 4-8 jam di dalam ruang gelap hingga larutan tersebut homogen dan reaksi yang terjadi sempurna (Lee dkk., 2006).

b. Pembuatan larutan induk trolox (1000 ppm)

Sebanyak 100 mg serbuk trolox ditimbangkan lalu dilarutkan dengan etanol p.a hingga larut. Larutan tersebut dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas (Arnao, 2000).

c. Pembuatan larutan baku trolox

Larutan stok trolox 1000 $\mu\text{g/ml}$ dipipet kedalam labu takar 5 mL. Pembuatan seri konsentrasi larutan trolox dilakukan dengan cara 1000 ppm larutan trolox dipipet masing-masing 25 μl , 50 μl , 75 μl , 100 μl , dan 125 μl dicukupkan volumenya dalam labu takar 5 mL dengan etanol p.a. sehingga didapatkan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm (Arnao, 2000).

d. Pembuatan larutan stok sampel

Fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil ditimbang sebanyak 100 mg menggunakan cawan porselen kemudian dilarutkan menggunakan etanol p.a sambil dihomogenkan, dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan volume akhir dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 1000 ppm (Sami dan Rahimah, 2016).

e. Pembuatan seri konsentrasi larutan sampel

Larutan induk sampel fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil 1000 ppm, dipipet masing-masing 0,15 μ l, 0,3 μ l, 0,45 μ l, 0,6 μ l dan 0,75 μ l dicukupkan volumenya dalam labu takar 5 ml dengan etanol p.a. sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 30 ppm, 60 ppm, 90 ppm, 120 ppm dan 150 ppm (Arnao, 2000).

f. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ)

Penentuan λ maksimum dilakukan terhadap campuran larutan trolox dengan konsentrasi 15 ppm sebanyak 1 ml dengan ABTS sebanyak 1 ml, diukur absorbansi larutan pada spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 600-800 nm (Saputri dkk., 2020).

g. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan terhadap campuran larutan trolox dengan konsentrasi 15 ppm sebanyak 1 ml dengan ABTS sebanyak 1 ml, diukur pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 pada λ maksimum (Sami dan Rahimah, 2016). Campuran dibaca absorbansi sampai menghasilkan absorbansi yang konstan pada panjang gelombang maksimum

absorbansi yang konstan dan memberikan serapan paling tinggi merupakan *operating time*. Serapan yang tinggi menunjukkan sampel sudah bereaksi dengan sempurna.

h. Pengukuran serapan larutan ABTS

Stok ABTS dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukan kedalam labu takar 5mL lalu dicukupkan dengan etanol p.a. sampai garis batas. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 15 menit dan diukur serapan dengan spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum (Saputri dkk., 2020).

i. Uji aktivitas antioksidan metode ABTS

1) Uji aktivitas antioksidan trolox

Larutan trolox dipipet masing-masing 1 mL pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm, dan ditambahkan 1 ml larutan ABTS, kemudian didiamkan ditempat yang gelap selama 25 - 35 menit (*operating time*), lalu diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Setiawan dkk., 2018).

2) Uji aktivitas antioksidan daun sawo kecil

Larutan stok sampel fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil dipipet masing-masing sebanyak 1 mL dengan seri konsentrasi 30 ppm, 60 ppm, 90 ppm, 120 ppm dan 150 ppm, dan ditambahkan larutan ABTS sebanyak 1 ml. Kemudian dihomogenkan lalu didiamkan ditempat gelap selama 25 - 35 menit (*operating time*), selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. persentase aktivitas antioksidan yang dapat dihitung dengan rumus (Winarsi, 2007).

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs kontrol : absorbansi ABTS

Abs sampel : absorbansi trolox dari masing-masing konsentrasi / absorbansi

fraksi air daun sawo kecil dari masing-masing konsentrasi

8. Uji penetapan kadar tanin total

a. Pembuatan larutan induk asam tanat

Sebanyak 0.1 mg asam tanat ditimbang lalu dilarutkan dengan etanol p.a hingga larut. Larutan tersebut dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (Mukhariyani, dkk., 2014).

b. Pembuatan larutan stok sampel

Fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil ditimbang secara seksama sebanyak 1.000 mg menggunakan cawan porselen kemudian dilarutkan menggunakan etanol p.a, dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan dicukupkan volumenya hingga sampai batas dengan etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 ppm (Pratama, 2019).

c. Pembuatan larutan Na_2CO_3 35%

Na_2CO_3 (Sodium karbonate) ditimbang sebanyak 35 gram, kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam gelas kimia, kemudian dicukupkan volumenya pada labu takar 100 ml (Chandran dan Indira, 2016).

d. Pengukuran panjang gelombang maksimum

Pengukuran panjang gelombang maksimum pada penelitian ini dilakukan dengan mengambil larutan asam tanat konsentrasi 60 ppm sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang berisi 7.5 ml aquabides, ditambahkan 0.5 ml pereaksi Folin-Ciocalteu dan 1 ml Na_2CO_3 35%. Larutan tersebut kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 400-800 nm (Mukhariani, dkk., 2014).

e. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara memipet larutan asam tanat konsentrasi 60 ppm sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang berisi 7.5 ml aquabides, ditambahkan 0.5 ml pereaksi Folin Ciocalteu dan 1 ml Na_2CO_3 35%. Larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dengan waktu pengukuran pada menit ke 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60. Penentuan *operating time* ditentukan dengan melihat nilai absorbansi yang stabil pada hasil pengukuran serapan sampel (Ryanata, 2014).

f. Pembuatan kurva baku asam tanat

Pembuatan seri konsentrasi larutan asam tanat 1000 ppm dilakukan dengan cara memipet larutan asam tanat tersebut dipipet masing-masing 100 μl , 200 μl , 300 μl , 400 μl , dan 500 μl dicukupkan volumenya dalam labu takar 5 mL dengan etanol p.a. Sehingga didapatkan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm kemudian diamlkan di tempat yang gelap selama 35-45 menit

(*operating time*), kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

g. Pengukuran kadar tanin total

Sampel ekstrak etanol daun sawo kecik fraksi air dipipet 1 ml dan dibuat replikasi sebanyak 3 kali, Masing-masing replikasi dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang berisi 7.5 ml aquabides, ditambahkan 0.5 ml pereaksi Folin Ciocalteu dan 1 ml Na₂CO₃ 35%. ditambahkan Larutan tersebut didiamkan selama 35-45 menit (*operating time*), dibaca serapannya pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kadar tanin total dapat dihitung dengan rumus (Hapsari dkk., 2018).

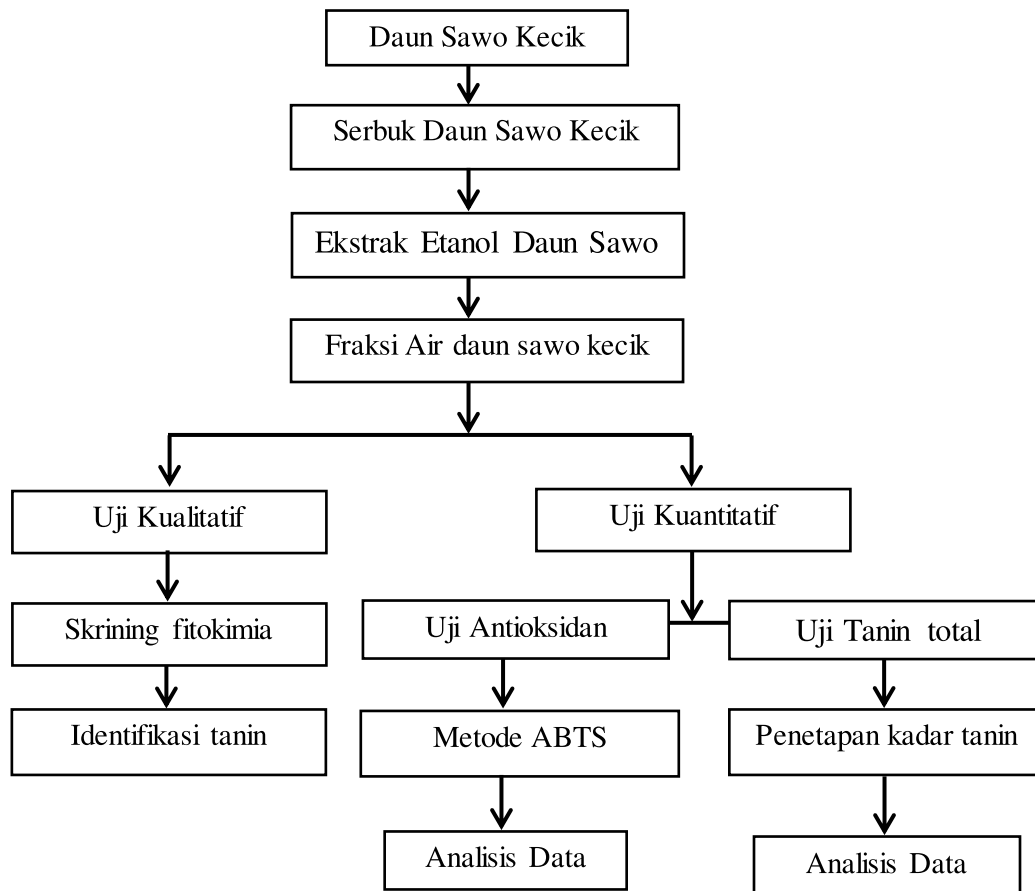
$$\text{Kadar tanin total} = \frac{X \cdot V \cdot FP}{BS}$$

Keterangan : X = Konsentrasi (ppm)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (ml)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (g)



Gambar 5. Skema jalannya penelitian

C. Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang dikumpulkan berupa persentase aktivitas antioksidan dan kadar tanin total dari fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil.

Persentase aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus :

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

Penentuan aktivitas antioksidan yang dapat dilakukan melalui perhitungan nilai IC_{50} yang ditentukan dengan nilai konsentrasi sampel (fraksi air) dan persen aktivitas antioksidan diplotkan masing-masing pada sumbu x sebagai konsentrasi

dan y sebagai absorbansi pada persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = bx + a$ digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} .

Penetapan kadar tanin total dilakukan dengan memasukkan y sebagai nilai absorbansi dan x sebagai konsentrasi dari sampel fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil ke dalam persamaan kurva baku asam tanat yaitu $y = bx + a$. Nilai kadar tanin total dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar tanin total} = \frac{X \cdot V \cdot FP}{BS}$$

Keterangan : X = Konsentrasi (ppm)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (ml)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (g)



HALAMAN INI TIDAK TERSEDIA

BAB III

**DAPAT DIAKSES MELALUI
UPT PERPUSTAKAAN UNWAHAS**

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 114,597 ppm menggunakan metode ABTS.
2. Fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil memiliki kadar tanin total sebesar 320,061 mgTAE/g ekstrak.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian tentang uji skrining fitokimia fraksi air ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) terhadap senyawa lain seperti flavonoid, fenolik, saponin, dan alkaloid serta penetapan kadar.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pada pengujian aktivitas antioksidan daun sawo kecil menggunakan metode FRAP.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, K.R., Sumantri dan Ulfah, M., 2011, Perbandingan Metode Spektrofotometri Ultraviolet (Uv) Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt) Pada Penetapan Kadar Natrium Diklofenak, *Jurnal*, 52.
- Arnao, M.B., 2000, Some Methodological Problems In The Determination Of Antioxidant Activity Using Chromogen Radicals: A Practical Case, *Trends in Food Science & Technology*, **11** (2000), 419-421.
- Bacelo, Hugo, A. M, Silvia C. R. Santos dan Cidalia M. S. Botelho, 2016, *Tanin-Based Biosorbents For Environmental Applications- A review. Chemical Engineering*, Journal 303.
- Backer, C. A., dan Brink, R. B.C. V. D., 1963, *Flora of Java (Spermathopytes Only)*, N.V.P Noordhoff, Groningen, The Netherland, **1**.
- Barasi, M, 2009, *At a Galance Ilmu Gizi*, Jakarta : Erlangga.
- Chandran, K. C. I, dan Indira, G., 2016, Quantitative Estimation of Total Phenolic, Flavonoid, Tannin and Chlorophyll Content of Leaves of *Strobilanthes Kunthiana* (Neelakurinji), *Jounal of Medicinal Plants Studies, Department of Pharmacognosy, Medical College, Thiruvananthapuram, kerala state, India*, 282-286.
- Day, R. A., dan Underwood, A. L., 2001, *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi ke 6, *Buku*, Jakarta, Erlangga.
- Depkes RI., 1986, *Sediaan Galenik* , Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI., 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesi Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Depkes RI., 2014, *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*, Jakarta.
- Firdaus, I.A., 2020, Identifikasi Tanin Pada Fraksi Air Tanaman Rumpun Bambu (*Lophatherum Gracile* B.) Dan Uji Aktivitas Antikanker Isolat Tanin Terhadap Sel Kanker Payudara T47, *Skripsi*, Malang, 82.
- Fitriana, W.D., Fatmawati, S, dan Ersam, T., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*), *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains*, Bandung.

- Gandjar, G. H., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 164-360.
- Hagerman, A. E., 2002, *Tanin Handbook*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University.
- Hapsari, A.M., Masfria dan Dalimunthe A., 2018, Pengujian Kandungan Total Fenol Ekstrak Etanol Tempuyung (*Shoncus arvensis L.*), *Jurnal Tropical Medicine (TM)*, Medan, **1**, 286-287.
- Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwan Sudiro, Cetakan Kedua Institute Teknologi Bandung, Bandung.
- Hardiyanto, E.B., 2008, *Seed Collection and Handing Sawo Kecik Manilkara kauki (L.) Dubard*. Penerbit Directorate General of Land Rehabilitation and Social Forestry Ministry of Forestry. Jakarta.
- Hui Y.H., 2006, *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering*, Volume 3. Boca Raton: Taylor & Francis Group, P. 102-111.
- Khare, C.P., 2007, *Indian Medicinal Plants*, New Delhi: Springer.
- Khotimah, H, Agustina, R., dan Ardana, M., 2018, Pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*), *Jurnal, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda*, Samrinda, **8**, 4.
- Kosasih, E.N., Tony S. dan Hendro H., 2006, *Peran Antioksidan pada Lanjut Usia, Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia*, Jakarta.
- Kumaro, F.H., 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Sawo Kecik (*Manilkara Kauki (L.) Dubard*) Secara Kualitatif Dan Kuantitatif Dengan Metode DPPH, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta, Yogyakarta.
- Lee, B.W., Lee, J.H., Gal, S.W., Moon, Y.H., dan Park, K.H., 2006, Selective ABTS Radical-Scavenging Activity of Prenylated Flavonoids from *Cudrania tricuspidata*, *J. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, (2), 427–432.
- Makalalag, A. K., Sangi, M., Kumaunang, M., 2011, Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etanol dari daun turi (*Sesbania grandiflora Pers*), *Jurnal kimia*, Manado, **8**, (1), 40.

- Marliani, L., Kusriani, H., dan Indah, N. S., 2014, Aktivitas Antioksidan Daun dan Buah Jamblang (*Syzigium cumini* L.) Skeel, *Prosiding SnaPP, Sains, Teknologi dan Kesehatan*.
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol*, **26** (2), 211-219.
- Mukhariani, Nonci, F.Y., dan Mumang, 2014, Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Secara Spektrofotometri UV-Vis, *Jurnal Farmasi*, Makassar, **2**, (4), 156.
- Noer, S, Pratiwi, R.D., dan Gresinta E., 2018, Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.), *Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*, Jakarta, 26.
- Nugroho, A. 2017, *Teknologi bahan alam*, Lambung Mangkurat University Press, Banjarmasin.
- Oliveiraa, S, Glaci, A.S., Camila, R.E., Thuany, A.S., Edmar, S, Oriana, A. F., Marcelo, J., Pena, F., dan Paulete, R., 2014. *Evaluation of Antiradical Assays Used in Determining The Antioxidant Capacity of Pure Compounds and Plant Extracts*. *Artigo*, **37**, (3), 499.
- Pambudi, R., Amelinda, F., Fauziah F.M., dan Rachma, W.T., 2012, Penentuan Nilai IC₅₀ Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH, *Jurnal paper statistik kimia, Jurusan Kimia Fmipa Universitas Brawijaya*, Malang.
- Parwata, O.A., 2016, *Antioksidan*, Universitas udayana, Bali.
- Pratama, M., Razak, R., Rosalina, V.S., 2019, Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Jurnal*, Makassar, **6**, (2), 369.
- Prior, R.L., Wu, X., dan Schaich, K., 2005, Standardized Methods for The Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chermistry*, **53**, 4290-4302.
- Puspitasari, A.D., dan Proyogo, L.S., 2017, Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal*, Semarang, 2.

- Puspitasari, A.D., dan Sumantri, 2019, Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Dan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Menggunakan Metode ABTS, *Jurnal Makalah Farmasi dan Farmakologi*, Semarang, hal 49.
- Puspitasari, A.D., dan Wulandari, 2017, Aktivitas antioksidan, penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal pharmaciana*, **7**, (2), 154-155.
- Puspitasari, A.D., Susanti, E., dan Khustiana, A., 2019, Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Vitamin C Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus Limon* (L.) Osbeck) Menggunakan Metode Abts, *Jurnal Ilmiah Teknosains*, **5**, (2), 101.
- Rachmawati, F., Nuria, M.C., dan Sumantri, 2011, Uji aktivitas antibakteri fraksi kloroform ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica* (L) urb) serta identifikasi senyawa aktifnya, *Jurnal*, Semarang.
- Raharjo, T. J., 2013, *Kimia Hasil Alam*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Ridho, E.A., 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Skripsi*, Pontianak: Universitas Tanjungpura, 2.
- Rivai, H., Febrikesari, G., dan Fadhilah, H., 2014, Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.), *Jurnal Farmasi Higea*, Padang, **6**, (1), 20-21.
- Ryanata, E., 2014, Penentuan jenis tanin dan penetapan Kadar tanin dari kulit buah pisang masak (*Musa paradisiaca* L.) Secara Spektrofotometri dan permanganometri, *Jurnal*, Surabaya, **4**, (1), 6.
- Sami, F.J., dan Rahimah, S., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat), *Jernal, Fitofarmaka Indonesia*, **2**, (2), 107-110.
- Saputri, A.P., Augustina, I. dan Fatmaria, 2020, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa Acuminate X Musa Balbisiana* (Abb Cv)) Dengan Metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat) Pada Berbagai Tingkat Kematangan, *Jurnal Kedokteran*, Palangka Raya, **8**, (1), 975-976.
- Sari, E.N., Hastuti, U.S., dan Prabaningtyas, S., 2015 Pengaruh Ekstrak Daun Sawo Kecil (*Manilkara kauki* (L.) Dubard) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Fusarium solani* Secara In Vitro, *Jurnal*, Malang, 4-5.

- Sembiring, B.B., Ma'mun dan Ginting, E.I., 2007, Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi terhadap Mutu Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.), *Jurnal, Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*.
- Serlahwaty, D., dan Sevia, A.N., 2016, Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kombinasi buah strawberry dan tomat dengan metode ABTS, *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50*, Jakarta.
- Setiawan, F., Yunita, O., dan Kurniawan, A., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP, *Jurnal Penelitian*, Surabaya, **2**, (2), 84.
- Shalaby, E.A., dan Shanab, S.M.M. 2013. Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action, *AJPP*, **7**, (10), 537.
- Supriyanto, R., 2011, Studi Analisis Spesiasi Ion Logam Cr(III) dan Cr(VI) dengan Asam Tanat dari Ekstrak Gambirmenggunakan Spektrofotometri UV-VIS, *Jurnal Sains MIPA*, April 2011, **17**, (1), 1978-1973.
- Vifta, R.L., Rahayu, R. T., dan Luhurningtyas, F. P., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe var Rubrum*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat), *Jurnal*, Semarang.
- Winarsi, H, 2007, *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*, Kanisius, Buku, Yogyakarta.
- Wulansari, A.N., 2018, Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review, *Jurnal, Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran*, Sumedang, **16**, (2), 425-426.