

**PENAPISAN FITOKIMIA, KANDUNGAN ANTIOKSIDAN, DAN TOTAL
FENOL EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO (*Medinilla Speciosa*)
DENGAN FRAKSINASI BERBEDA**

SKRIPSI

Oleh:

AHMAD SYIFA'UL QULUB

16690005



PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN

FAKULTAS TEKNIK DAN INFORMATIKA

UNIVERSITAS PGRI SEMARANG

2022

**PENAPISAN FITOKIMIA, KANDUNGAN ANTIOKSIDAN, DAN TOTAL
FENOL EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO (*Medinilla Speciosa*)
DENGAN FRAKSINASI BERBEDA**

SKRIPSI

Oleh:

AHMAD SYIFA'UL QULUB

16690005

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pangan



PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN

FAKULTAS TEKNIK DAN INFORMATIKA

UNIVERSITAS PGRI SEMARANG

2022

HALAMAN PERSETUJUAN

PENAPISAN FITOKIMIA, KANDUNGAN ANTIOKSIDAN, DAN TOTAL FENOL EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO (*Medinilla Speciosa*) DENGAN FRAKSINASI BERBEDA

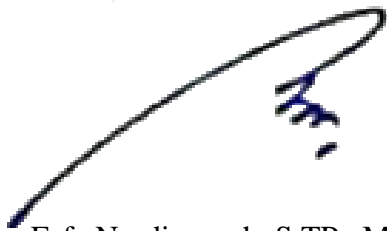
Disusun dan diajukan oleh

AHMAD SYIFA'UL QULUB

16690005

Telah disetujui oleh pembimbing untuk dilanjutkan di hadapan Dosen Penguji

Pembimbing I,



Fafa Nurdiansyah, S.TP., M.Sc
NPP. 158901487

Pembimbing II,



Dr.Pi. Rizky Muliani D.U , S.Pi., M.Si
NPP 148601435

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

PENAPISAN FITOKIMIA, KANDUNGAN ANTIOKSIDAN, DAN TOTAL FENOL EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO (*Medinilla Speciosa*) DENGAN FRAKSINASI BERBEDA

Disusun dan diajukan oleh

AHMAD SYIFA'UL QULUB

16690005

Telah dipertahankan didepan Dewan Penguji pada tanggal 19 Agustus 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat Dewan Penguji

Dekan



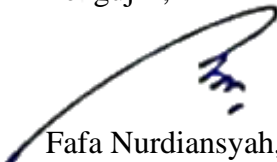
Dr. Slamet Supriyadi M.Env,St.
NIP 195912281986031003

Sekretaris



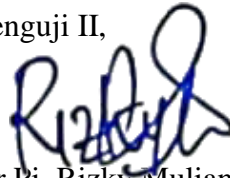
Fafa Nurdyansyah, S.TP., M.Sc
NPP 158901487

Penguji I,



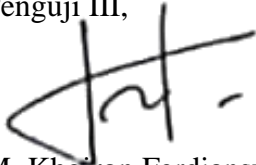
Fafa Nurdyansyah, S.TP., M.Sc
NPP 158901487

Penguji II,



Dr.Pi. Rizky Muliani D.U , S.Pi., M.Si
NPP 148601435

Penguji III,



M. Khoiron Ferdiansyah,S.TP., M.Sc
NPP 148701431

HALAMAN RIWAYAT HIDUP



Ahmad Syifa'ul Qulub, Lahir pada tanggal 16 Juli 1998, di Gresik Provinsi Jawa Timur. Penulis merupakan Anak ke 3 dari 4 bersaudara, dari pasangan Ahmad Shobirin dan Mar'atus Sholihah. Jenjang pendidikan dasar penulis dimulai dari MI tarbiyatul Wathon (tahun 2004 – 2010) dan di yayasan pesantren MTS Tarbiyatut Tholabah (tahun 2010 – 2013). Adapun jenjang Pendidikan menengahnya di yayasan pesantren MA MA'arif 7 (tahun 2013 – 2016) dan mulai masuk pada Universitas PGRI Semarang pada tahun 2016. Selama 6 tahun mengabdikan di pesantren penulis aktif dalam beberapa organisasi dan kegiatan non-akademis yang pernah diikuti penulis antara lain Osis Mts TABAH Sekbid organisasi, Jurnalistik Mts TABAH, Teater AKSARA, sekbid pendidikan dalam kepengurusan ABAHIR, pengajar di Lembaga Pengembangan Bahasa Asing PPSD.

Sebagai Mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi internal maupun eksternal universitas. Penulis pernah menjabat sebagai sekbid Luar Negeri dalam HIMAGIPA UPGRIS serta organisasi eksternal sebagai kordinator INFOKOM dalam HMPPI Regional 3 (JATENG – DIY) dan 2 periode sebagai Kordinator HMPPI Regional 3 (JATENG – DIY). Selayaknya anak muda, penulis menyukai hal – hal kecil seperti makan, main *game*, membaca *manga* dan mendengarkan musik intro *Lo-fi* sendiri. *Feel free* untuk memberikan saran dan kritik pada penulis di media sosial @faul_qulub (*ig*) atau *email* : ahmadsyifaqulub98@gmail.com.

HALAMAN PERUNTUKAN

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT dengan kemurahan dan ridho-Nya, skripsi ini dapat ditulis dengan baik dan lancar hingga selesai. Dengan ini akan saya persembahkan skripsi ini kepada :

Kedua orang tua saya tersayang serta saudara - saudara saya yang selalu memberikan motivasi, doa terbaik dan menyisihkan finansial nya, sehingga saya bisa menyelesaikan studi saya.

Safira Firdausi Putri Afinda yang juga mendukung, menemani dan pasangan terbaik dalam menejemen *prograss* apapun yang saya lakukan perihal profesi maupun akademisi.

Mama Iin beserta Keluarga besar yang sudah menganggap saya sebagai bagian dari keluarga yang penuh romansa Bahagia.

Bapak Arief Rakhman Affandi, S.TP., M.Si selaku dosen wali sekaligus orang tua Teknologi Pangan Angkatan 2016 yang mana kami sangat bersyukur menjadi bagian keluarga besar Angkatan 2016 bersama bapak.

Bapak Umar Hafidz Asy'ari Hasbullah STP, MSc selaku Mentor dan pembimbing dalam PIMNAS yang membahagiakan. Saya sangat bersyukur dipertemukan Tuhan dengan bapak.

Keluarga Teknologi Pangan Angkatan 2016 UPGRIS dan Keluarga besar HMPPI REG 3 (JATENG – DIY) yang telah menerimaa saya menjadi bagian dari cerita menyenangkan.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ahmad Syifa'ul Qulub

NPM : 16690005

Progdi : Teknologi Pangan

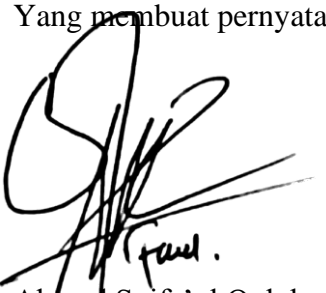
Fakultas : Teknik dan Informatika

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya buat ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan plagiarisme.

Apabila pada kemudian hari skripsi ini terbukti hasil plagiarisme, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Semarang, 19 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan



Ahmad Syifa'ul Qulub
NPM 16690005

RINGKASAN

Buah parioto mengandung banyak senyawa metabolit sekunder. Penapisan fitokimia merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dan memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa apa saja yang terdapat pada buah parioto. Adapun tujuan penelitian ini yaitu mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksinasi ekstrak metanol, fraksinasi ekstrak n-heksan dan fraksinasi ekstrak etil asetat dari buah parioto serta mengetahui kandungan total fenol serta penapisan fitokimia fraksinasi ekstrak buah parioto. Pada penelitian ini pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan pengukuran kandungan total fitokimia dilakukan dengan mengukur kadar total fenol. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor yaitu jenis pelarut yang digunakan. Pelarut fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 3 jenis pelarut fraksi yaitu metanol, n-heksan dan etil asetat. Penelitian ini diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 9 unit percobaan dengan tahapan pembuatan simplisia kering kemudian pembuatan ekstrak kasar buah parioto dilakukan maserasi kemudian dilakukan fraksinasi pada ekstrak kasar dengan 3 pelarut methanol, etil asetat dan n-heksan. Nilai total fenol didapatkan pada pelarut etil asetat sebanyak 38,75 µg GAE/gr, pelarut Methanol sebanyak 68,89 µg GAE/gr, dan pada pelarut n-heksan sebanyak 146,29 µg GAE/gr. Nilai aktivitas antioksidan (IC50) didapatkan pada fraksi methanol dengan rata-rata $7.59 \pm 0.42a$ (µg/ml); fraksi etil asetat $4.13 \pm 2.01a$ (µg/ml) dan pelarut n-heksan $1.73 \pm 0.09a$ (µg/ml).

Kata Kunci : Anti oksidan, Ekstrak, Fitokimia, Parioto, Total Fenol.

SUMMARY

Parijoto fruit contains many secondary metabolites. Phytochemical screening is one way that can be done to identify the content of secondary metabolites and provide an overview of the content of any compounds contained in parijoto fruit. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of methanol extract fractionation, fractionation of n-hexane extract and fractionation of ethyl acetate extract from parijoto fruit and to determine the total phenol content and phytochemical screening of parijoto fruit extract fractionation. In this study, the measurement of antioxidant activity was carried out by the DPPH method and the measurement of the total phytochemical content was carried out by measuring the total phenol content. This study used a completely randomized design (CRD) with one factor, namely the type of solvent used. Fractionated solvents used in this study included 3 types of fraction solvents, namely methanol, n-hexane and ethyl acetate. This study was repeated 3 times so that 9 experimental units were obtained with the stages of making dry simplicia then maceration of the crude extract of parijoto fruit was carried out and then fractionation was carried out on the crude extract with 3 solvents of methanol, ethyl acetate and n-hexane. The total value of phenol was obtained in ethyl acetate as much as 38.75 g GAE/gr, Methanol solvent as much as 68.89 g GAE/gr, and in n-hexane solvent as much as 146.29 g GAE/gr. The value of antioxidant activity (IC₅₀) was found in the methanol fraction with an average of $7.59 \pm 0.42a$ ($\mu\text{g/ml}$); the ethyl acetate fraction was $4.13 \pm 2.01a$ ($\mu\text{g/ml}$) and the solvent n-hexane was $1.73 \pm 0.09a$ ($\mu\text{g/ml}$). Keywords: Parijoto, Anti-oxidant, Total Phenol, Phytochemicals, Extracts.

Keywords: Anti-oxidant, Extract, Phytochemical, Parijoto, Total Phenol.

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “PENAPISAN FITOKIMIA, KANDUNGAN ANTIOKSIDAN, DAN TOTAL FENOL EKSTRAK METANOL BUAH PARIJOTO (*Medinilla Speciosa*) DENGAN FRAKSINASI BERBEDA” guna memenuhi sebagian persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Teknik dan Informatika dan Universitas PGRI Semarang

Penulis menyadari kelemahan serta keterbatasan yang ada sehingga dalam menyelesaikan skripsi ini memperoleh bantuan dari berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Sri Suciati M.Hum. selaku Rektor Universitas PGRI Semarang yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu di Universitas PGRI Semarang.
2. Bapak Dr. Slamet Supriyadi, M.Env. St selaku Dekan Fakultas Teknik dan Informatika yang telah memberi izin penulis untuk melakukan penelitian.
3. Bapak Fafa Nurdiansyah, S.TP., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing I serta Ketua Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik dan Informatika Universitas PGRI Semarang.
4. Bapak Arief Rakhman Affandi, S.TP., M.Si. selaku Wali Dosen yang telah bijaksana dalam membimbing Penulis dengan sepenuh hati.

5. Ibu Dr. Pi. Rizky Muliani, D.U., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan dedikasi yang tinggi.
6. Bapak M. Khoiron Ferdiansyah, S.TP., M.Sc selaku Dosen Penguji III yang telah memberikan pesan dan saran yang membangun.
7. Seluruh Dosen Jurusan Teknologi Universitas PGRI Semarang yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan baik isi maupun susunannya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat tidak hanya bagi penulis juga bagi para pembaca.

Semarang,

Penulis

DAFTAR ISI

COVER DALAM.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERUNTUKAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Buah Parijoto dan Kandungan Kimianya.....	5
2.2 Ekstraksi	7
2.3 Fraksinasi	11
2.4 Tinjauan Pelarut	12
2.5 Antioksidan	15
2.6 Radikal Bebas.....	17
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan.....	17
2.8 Senyawa Fenolat	19
2.9 Penapisan Fitokimia	19
2.10 Total Fenol	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	24

3.1	Tempat dan Waktu Pelaksanaan	24
3.2	Alat dan Bahan.....	24
3.3	Bahan	24
3.4	Rancangan Percobaan	24
3.5	Tahapan Penelitian.....	25
3.6	Analisis Penelitian	27
3.7	Analisi Data	29
3.8	Hipotesis	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		30
4.1	Hasil Rendemen Ekstrak.....	30
4.2	Penapisan Fitokimia.....	32
4.3	Total Fenol.....	34
4.4	Kandungan Antioksidan	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		38
5.1	Kesimpulan	38
5.2	Saran	38
DAFTAR PUSTAKA		39
LAMPIRAN		44

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil Rendemen simplisia buah parijoto.....	31
Tabel 4. 2 Hasil rendemen ekstrak kasar dengan pelarut methanol buah parijoto..	31
Tabel 4. 3 Hasil rendemen fraksinasi ekstrak kasar buah parijoto.....	32
Tabel 4. 4 Uji penapisan fitokimia ekstrak buah parijoto	33
Tabel 4. 5 Nilai total fenol ekstrak buah parijoto.....	34
Tabel 4. 6 Aktivitas antioksidan pada fraksinasi ekstrak buah parijoto.....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Buah parijoto	5
Gambar 2. Struktur 1,1-diphenyl-2-picrylhydrzyl (DPPH) radikal bebas	18
Gambar 3. Struktur 1,1-diphenyl-2-picrylhydrzyl (DPPH) bukan radikal bebas....	18
Gambar 4. (a) struktur isoflavon, (b) struktur flavon dan (c) struktur neoflavon ...	20
Gambar 5. Struktur kimia saponin solanin.....	21
Gambar 6. Asam tanat yang merupakan salah satu jenis tanin.	22
Gambar 7. Diagram alir penelitian	26
Gambar 8. grafik analisis total fenol	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Rendemen	44
Lampiran 2. Perhitungan Antioksidan Fraksinasi Ekstrak buah parijoto.....	46
Lampiran 3. Perhitungan Total Fenol Fraksinasi Ekstrak buah Parijoto	54
Lampiran 4. Penapisan fitokimia parijoto	57
Lampiran 5. Dokumentasi kegiatan	60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan sebagai pangan fungsional, dimana kekayaan hayati tersebut belum dapat dimanfaatkan dengan sepenuhnya (Vifta dan Advistasari, 2018; Pujiastuti dan Islamiyati, 2021). Parijoto (*Medinilla Speciosa*) adalah salah satu tanaman khas yang banyak terdapat di daerah Colo, Kudus Jawa Tengah. Tanaman parijoto tumbuh di lereng gunung dan hutan, namun dewasa ini sudah mulai dibudidayakan sebagai tanaman hias yang berkasiat (Maria *et al.* 2014; Wibowo *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan Wachidah (2013) menunjukkan bahwa ekstrak buah parijoto mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang sangat aktif sebagai antioksidan.

Buah parijoto mengandung banyak senyawa metabolit sekunder. Penapisan fitokima merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dan memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa apa saja yang terdapat pada buah parijoto. Penapisan fitokimia pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi tertentu. Hasil panapisan fitokimia menunjukkan bahwa tanin, flavonoid, alkaloid dan saponin merupakan senyawa aktif yang terkandung dalam buah parijoto (Vifta dan Advistasari, 2018).

obatanti kolesterol (Luhurningtyas *et al.*, 2020), dan sitotoksik terhadap sel kanker serviks hela (Melinda *et al.*, 2021).

Antioksidan alami banyak ditemukan pada buah-buahan atau tanaman contohnya buah naga, bluberi, stroberi, jeruk, dan tomat (Pujiastuti dan Islamiyati, 2021). Senyawa flavonoid, kumarin, alkaloid, asam cinamat, karotenoid dan asam fungsional organik, merupakan beberapa antioksidan dari senyawa fenolik yang bersumber dari tanaman. Antioksidan merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah mengenai radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang bersifat sangat reaktif karena tidak memiliki pasangan elektron pada kulit bagian terluarnya. Antioksidan dapat menghambat proses oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat terjadinya kerusakan pada sel (Vifta *et al.* 2019).

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yaitu metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) dan Hydroxyl Radical Activities (HORAC). Pengukuran aktivitas antioksidan penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH. Metode DPPH didasarkan pada kemampuan dari antioksidan dalam menghambat terjadinya radikal bebas yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen, dimana adanya donor atom hidrogen dapat menyebabkan terjadinya proses reduksi. Aktivitas antioksidan dapat diamati dengan memperhatikan proses terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu karena adanya delokalisasi yang kemudian berubah menjadi warna ungu kemerahan/kuning hydrazine ketika bereaksi dengan antioksidan karena mengalami proses reduksi (Vifta *et al.*, 2019; Kumalasari *et al.*, 2019).

Faktor penentu keberhasilan dari suatu ekstraksi adalah jenis dan mutu dari pelarut yang digunakan. Perbedaan jenis pelarut yang digunakan dapat memberikan pengaruh yang berbeda pada hasil ekstraksi. Variasi pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metanol, n-heksan dan etil asetat, dimana dari setiap pelarut yang digunakan akan diukur aktivitas antioksidannya. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka akan dilakukan kajian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dan kandungan total fenol serta penapisan fitokimia fraksinasi ekstrak buah parijoto. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan pengukuran kandungan total fitokimia dilakukan dengan mengukur kadar total fenol. Berdasarkan penelitian Ameliawati, R. 2018 hasil yang sinkron antara perubahan total fenol dengan aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan kontribusi fenol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak parijoto. Peningkatan total fenol yang terjadi akibat meningkatnya pH berdampak terhadap peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak buah parijoto, dan sebaliknya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah fraksinasi ekstrak metanol, fraksinasi ekstrak n-heksan dan fraksinasi ekstrak etil asetat dari buah parijoto memiliki aktivitas antioksidan?
2. Begaimanakah kandungan total fenol serta penapisan fitokimia fraksinasi ekstrak buah parijoto?

1.3 Tujuan Penelitian

Dari rumusan masalah di atas, adapun tujuan penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksinasi ekstrak metanol, fraksinasi ekstrak n-heksan dan fraksinasi ekstrak etil asetat dari buah parjioto.
2. Mengetahui kandungan total fenol serta penapisan fitokimia fraksinasi ekstrak buah parijoto.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat antara lain :

1. Memberikan informasi yang lebih luas mengenai keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan dalam bidang fitofarmaka.
2. Memberikan informasi mengenai potensi buah parjioto sebagai antioksidan alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Parijoto dan Kandungan Kimianya

Parijoto (*Medinilla Speciosa*) tumbuh subur di lereng gunung pada ketinggian 800 hingga 2.300 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini banyak terdapat di lereng Pegunungan Muria, Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Parijoto terbukti mengandung senyawa fenol dan memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan ekstrak kasar buah parijoto mencapai 408 mg GAE/g. Ketika berumur 3 bulan setelah penyerbukan memiliki kandungan fenol mencapai 266,79 mg GAE/g. Aktivitas antioksidan ekstrak kasar ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ 48,24 µg/ml. Sedangkan ketika buah matang berumur 3 bulan nilai IC₅₀ mencapai 30,51 µg/ml (Ameliawati, 2018; Wachidah, 2013). Tanaman parijoto tumbuh dengan baik pada tanah yang berhumus tinggi dan lembab dengan ketinggian 800 sampai 2300 meter di atas permukaan laut (Vifta dan Advistasari, 2018). Dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Buah parijoto (Wachidah, 2013)

Klasifikasi tanaman parijoto adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Rosidae
- Ordo : Myrtales
- Famili : Melastomataceae
- Genus : *Medinilla*
- Spesies : *Medinilla speciosa*

Buah parijoto memiliki berbagai kandungan kimia yaitu : saponin, glikosida flavonoid dan tanin (Wachidah, 2013). Flavonoid yang merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Buah parijoto mengandung flavonoid, saponin, tanin dan glikosida. Senyawa tersebut teridentifikasi dalam uji penapisan fitokimia yang dilakukan baik pada ekstrak metanol maupun ekstrak etil asetat buah parijoto (Niswah, 2014).

Beberapa penelitian tentang tanaman parijoto diantaranya yaitu, Luhurningtyas (2020) melakukan penelitian ekstrak nanopartikel buah parijoto untuk menurunkan kadar gula darah secara invitro, dimana nanopartikel ekstrak buah parijoto dapat mempengaruhi agen penurunan glukosa. Nanopartikel buah parijoto juga berpotensi sebagai kandidat obat anti kolesterol (Luhurningtyas *et al.*, 2020). Ekstrak buah parijoto juga berpotensi sitotoksik terhadap sel kanker serviks Hela, dimana kadar total alkaloid dan nilai IC₅₀ berkorelasi sangat kuat dan signifikan (Melinda *et al.*, 2021).

Vifta dan Advistasari (2018), melakukan skrining fitokimia terhadap buah parijoto, dimana hasil dari penapisan fitokimia menunjukkan buah parijoto mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam buah parijoto memiliki aktivitas yang dipengaruhi beberapa faktor. Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa perbedaan suhu mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak parijoto (Pertiwi *et al.*, 2019). Perubahan juga terjadi pada kandungan fenol dalam ekstrak parijoto. Selain suhu, pH ekstrak juga dimungkinkan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan cara penarikan senyawa metabolit sekunder dari suatu simplisia bahan alam. Ekstraksi umumnya dilakukan dengan menggunakan pelarut yang berbeda-beda polaritasnya, mulai dari pelarut nonpolar hingga pelarut polar. Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang ada di dalam berbagai simplisia dapat digolongkan pada golongan minyak atsiri, alkaloida, flavonoida dan lain-lain. Diketuinya senyawa aktif yang terdapat pada simplisia maka akan mempermudah pemilihan pelarut serta cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2013).

2.2.1. Jenis Ekstraksi

2.3.2.1 Ekstraksi Cara Dingin

Terdapat dua metode untuk ekstraksi cara dingin yaitu dapat dilakukan dengan metode maserasi dan perkolasi (Ditjen POM, 2013).

1). Maserasi

Proses mengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar).

2). Perkolasi

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) serta umumnya dilakukan pada temperatur ruangan.

2.3.2.2 Ekstraksi Cara Panas

Ekstraksi dengan cara panas dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya refluks, soxhlet, digesti, infus, dekok dan destilasi uap. Antara lain sebagai berikut (Ditjen POM, 2013) :

1) Refluks

Ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu serta jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2) Soxhlet

Ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru serta umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga ekstraksi terjadi secara kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3) Digesti

Maseras kinetik (dengan pengadukan kontinu) menggunakan temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4) Infus

Ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

5) Dekok

Infus dengan waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air yaitu pada suhu 90-100° C selama 30 menit

6) Destilasi Uap

Ekstraksi senyawa menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial. Senyawa menguap akan terikut dengan fase uap air dari ketel secara kontinu serta diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

Salah satu faktor penting yang harus diperhatikan dalam proses ekstraksi yaitu pemilihan pelarut, dimana pelarut yang digunakan harus sesuai dengan polaritas senyawa metabolit yang akan diekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan yaitu maserasi. Metode maserasi merupakan metode sederhana, yang mudah dilakukan dan tanpa melalui proses pemanasan sehingga rusaknya bahan aktif dalam sampel dapat dihindari. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia kedalam larutan penyari dengan disertai beberapa kali pengadukan dan dilakukan pada suhu ruang. Larutan penyari tersebut akan masuk ke dalam rongga sel dengan kandungan zat aktif dan akan melarutkannya karena terdapat perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang terdapat di

dalam dan diluar sel (Susiloningrum dan Indrawati, 2020). Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang tepat. Ekstraksi meliputi distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur.

Pelarut yang umum dipakai adalah air dan pelarut organik lain seperti kloroform, eter, dan alkohol (Sudjadi, 2018). Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengisolasi suatu senyawa dari bahan alam tergantung pada tekstur, kandungan senyawa, dan sifat senyawa yang diisolasi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu, sokletasi, maserasi, dan perkolasi. Metode penelitian ini menggunakan metode maserasi. Metode ini digunakan karena kandungan senyawa organik yang ada dalam bahan cukup tinggi dan telah diketahui jenis pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang diisolasi. Metode maserasi sangat menguntungkan karena pengaruh suhu dapat dihindari, suhu yang tinggi memungkinkan terdegradasinya senyawa-senyawa metabolit sekunder. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel (Djarwis, 2014)

Selain dengan maserasi, ekstraksi suatu senyawa metabolit juga dapat dilakukan dengan infusa. Infusa merupakan salah satu cara ekstraksi dimana ekstraksi simplisia dilakukan dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Cara ekstraksi dengan infusa yaitu dengan mencampur simplisia yang sudah dihaluskan dalam wadah tertentu dan dengan takaran air tertentu, kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit terhitung mulai dari suhu dalam panci sampai

mencapai suhu 90⁰C sambil sekali sekali diaduk. Infus disaring dalam keadaan panas, untuk mencukupi kekurangan air, dapat ditambahkan air panas melalui ampas hingga diperoleh volume volume yang diinginkan (Peloan dan Kaempe, 2020). Salah satu kekurangan dari metode maserasi adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 20014).

2.3 Fraksinasi

Fraksinasi adalah pemisahan antara zat cair dengan zat cair berdasarkan tingkat kepolarannya. Ekstrak dipartisi dengan menggunakan peningkatan polaritas seperti petroleum eter, n-heksana, kloroform, etil asetat, dan etanol. Pemilihan pelarut pada ekstraksi bergantung pada sifat analitnya dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, contohnya analit yang sifat lipofilitasnya tinggi akan terekstraksi pada pelarut yang relatif nonpolar seperti n-heksana sedangkan analit yang semipolar terlarut pada pelarut yang semipolar (Venn, 20018). Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), size-exclusion chromatography (SEC), solid-phase extraction (SPE) (Sarker, 2016).

2.4 Tinjauan Pelarut

Jenis dan mutu pelarut yang digunakan sangat menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Ada 2 syarat agar pelarut dapat digunakan didalam proses ekstraksi, yaitu pelarut tersebut harus merupakan pelarut terbaik untuk bahan yang akan diekstraksi, dan pelarut tersebut harus dapat terpisah dengan cepat setelah pengocokan. Pemilihan pelarut yang harus diperhatikan adalah toksisitas, ketersediaan, harga, sifat tidak mudah terbakar, rendahnya suhu kritis, dan tekanan kritis untuk meminimalkan biaya operasi serta reaktivitas (Amiarasi, *et al.*, 2016).

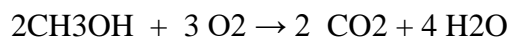
2.1.1 n-Heksana

n-Heksana adalah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul C_6H_{14} . Isomer n-heksana tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena n-heksana bersifat non polar. n-Heksana didapatkan dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70 °C. n-heksana biasa digunakan untuk mengekstrak minyak dan lemak yang memiliki kepolaran yang sama (Aziz., *et al.*, 2019). n-Heksana merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh dan handayani, 2010).

2.1.2 Methanol

Metanol, juga dikenal sebagai metil alkohol, wood alcohol atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Methanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan 1 atmosfer Metanol berbentuk cairan yang

ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri. Metanol diproduksi secara alami oleh metabolisme anaerobik oleh bakteri. Hasil proses tersebut adalah uap metanol (dalam jumlah kecil) di udara. Setelah beberapa hari, uap metanol teroksidasi oleh oksigen dengan bantuan sinar matahari menjadi karbon dioksida dan air. Reaksi kimia metanol yang terbakar di udara dan membentuk karbon dioksida serta uap air adalah sebagai berikut:



Api dari metanol biasanya tidak berwarna, Oleh karena itu harus berhati-hati bila berada dekat metanol yang terbakar, untuk mencegah cedera akibat api yang tak terlihat. Karena sifatnya yang beracun, metanol sering digunakan sebagai bahan additif bagi pembuatan alkohol untuk penggunaan industri; Penambahan "racun" akan menghindarkan industri pajak yang dapat dikenakan karena kalau etanol merupakan bahan utama untuk minuman keras (minuman beralkohol). Metanol kadang juga disebut sebagai *wood* alkohol karena Metanol dahulu merupakan produk samping dari distilasi kayu. Saat ini metanol dihasilkan melalui proses multi tahap. Secara singkat gas alam dan uap air dibakar dalam tungku untuk membentuk gas hidrogen dan karbon monoksida kemudian, gas hidrogen dan karbon monoksida bereaksi dalam tekanan tinggi dengan bantuan katalis untuk menghasilkan metanol. Tahap pembentukannya adalah endotermik dan tahap sintesisnya adalah eksotermik (Perry's, 2017).

2.1.3 Etil asetat

Etil asetat atau yang sering disebut *Ethyl Acetate* dalam nama dagang mempunyai rumus molekul yaitu ($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) atau ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) dengan berat molekul 88,106 g/mol (Mackay dkk., 2006). Etil asetat adalah pelarut yang cukup polar yang memiliki keuntungan sebagai Volatile, relatif tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat umumnya dibuat dengan esterifikasi etanol dan asam asetat (Johnston dkk, 2011). Etil asetat umumnya digunakan sebagai pelarut industri yang digunakan untuk cat, pelapis, noda kayu, pernis berbasis minyak dan enamel, perekat, selulosa, tinta, plastik, atau lemak. Selain itu, etil asetat dapat digunakan dalam pembuatan film dan pelat fotografi, sebagai perantara obat atau penghilang cat kuku (Johnston dkk, 2011).

1). Sifat – sifat fisika $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$:

- Berat Molekul : 88,106 g/mol

- Densitas : 0,9003 g/cm³

- Titik didih : 77,11°C

- Titik Lebur : -83,8°C

2). Sifat – sifat kimia $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$:

Ester dapat diammonolisa membentuk asetamida pada pembuatan PVC (polyvinyl chloride).

Reaksi: $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{CH}_3\text{CONH}_2 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

2.5 Antioksidan

Antioksidan alami banyak ditemukan pada buah-buahan atau tanaman (Pujiastuti dan Islamiyati, 2021). Antioksidan merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah mengenai radikal bebas. Antioksidan secara biologis dapat mengatasi dampak negatif oksidasi dalam tubuh yaitu dengan menghambat proses oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat terjadinya kerusakan pada sel tubuh (Vifta *et al.*, 2019; Kumalasari *et al.*, 2019). Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan nilai IC50, semakin rendah nilai IC50 maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Aktivitas antioksidan dari berbagai sumber buah-buahan pada umumnya diekstrak dengan pelarut air, etanol, methanol, eter, etil asetat, dan butanol. Aktivitas antioksidan pada buah belimbing wuluh Fraksi eter dan air memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dengan nilai IC50 50,36 ppm dan 44,01 ppm, dan sebagai pembanding memiliki nilai IC50 sebesar 7,00 ppm (Kuncahyo dan Sunardi, 2007). Metode yang biasa digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan tanaman yaitu dengan menggunakan metoda radikal bebas DPPH. Tujuan metoda ini adalah sebagai parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan efek 50% (IC50). Karena adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat, ketika elektron menjadi berpasangan, absorbansi akan menurun. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour, dkk. 2019).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkap radikal bebas. Radikal bebas dihasilkan karena beberapa faktor, seperti asap, debu, polusi, kebiasaan mengkonsumsi makanan cepat saji yang tidak seimbang antara karbohidrat,

protein dan lemaknya. Senyawa antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya pada pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas ini bisa dinetralkan dan tidak lagi mengganggu metabolisme tubuh. Menurut Kartikawati, 2019 ada tiga macam mekanisme kerja antioksidan pada radikal bebas, yaitu:

1. Antioksidan primer yang mampu mengurangi dismutase (SOD), glutathione peroxidase, dan katalase stabil. Contohnya adalah superoksida yang dapat mengubah radikal superoksida menjadi molekul mengubahnya menjadi produk yang lebih.
2. Antioksidan air pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan sekunder berperan mengikat radikal bebas dan mencegah amplifikasi senyawa radikal. Beberapa contohnya adalah vitamin A (betakaroten), vitamin C, vitamin E, dan senyawa fitokimia.
3. Antioksidan tersier berperan dalam mekanisme biomolekuler, seperti memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas.

Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas stabil dan tidak reaktif (Singh, 2014). Terdapat sistem enzim dalam tubuh manusia misalnya enzim superoksida dismutase yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, namun jika jumlah radikal bebas lebih banyak daripada enzim yang terdapat dalam tubuh maka tubuh perlu tambahan antioksidan dari luar. Berdasarkan sumbernya antioksidan terbagi menjadi dua jenis, yaitu antioksidan buatan dan antioksidan alami (Meenakshi *et al.*, 2019)

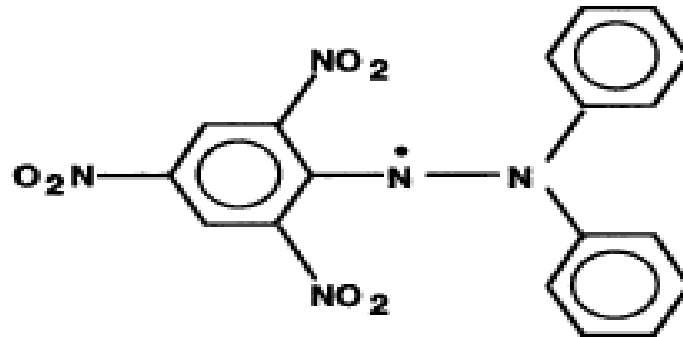
2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang bersifat sangat reaktif karena tidak memiliki pasangan elektron pada kulit bagian terluarnya sehingga cenderung tidak stabil (Vifta *et al.*, 2019). Ketiadaan pasangan elektron tersebut dapat menyebabkan radikal bebas mudah untuk bereaksi dengan moleku-molekul disekitarnya sehingga dapat mengakibatkan kerusakan pada sel tubuh (Kumalasari *et al.* 2019). Antioksidan buatan seperti asam benzoat, Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT) dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dapat menimbulkan efek samping pada kesehatan tubuh. BHA dan BHT telah diteliti dapat menimbulkan tumor pada hewan uji jika digunakan dalam jangka waktu yang lama dan juga dapat menimbulkan kerusakan hati jika dikonsumsi secara berlebihan (Andarwulan *et al.*, 2016). Efek samping yang ditimbulkan oleh penggunaan antioksidan buatan mendorong perkembangan penelitian terhadap antioksidan alami yang lebih aman dan lebih mampu dalam mengurangi radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan atau buahbuahan (Ukheyanna, 2012).

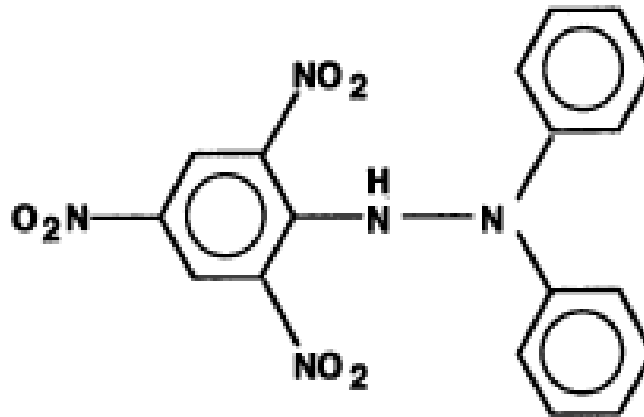
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode diantaranya yaitu dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) dan Hydroxyl Radical Activities (HORAC). Pada pengujian DPPH, senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme transfer atom hidrogen yang dapat menyebabkan peluruhan

warna pada DPPH dari warna ungu menjadi kuning Dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Struktur 1,1-diphenyl-2-picrylhydrzyl (DPPH) radikal bebas (Whardani *et al.*, 2018)



Gambar 3. Struktur 1,1-diphenyl-2-picrylhydrzyl (DPPH) bukan radikal bebas (Whardani *et al.*, 2018)

DPPH diukur pada panjang gelombang 517 nm. Parameter dari pengujian metode DPPH yaitu nilai *Inhibition Concentration* 50 (IC_{50}) atau konsentrasi yang dapat meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Metode pengujian DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, relatif cepat untuk dikerjakan serta tidak membutuhkan banyak reagen. (Chandra *et al.*, 2019).

Pengelompokan nilai konsentrasi inhibisi dari suatu senyawa didasarkan pada aktivitas antioksidannya dimana suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas

antioksidan dengan kategori kelompok sangat kuat apabila nilai IC_{50} -nya kurang dari 50 ppm, termasuk kelompok kuat jika nilai IC_{50} -nya berada diantara 50 – 100 ppm, termasuk kelompok sedang jika nilai IC_{50} berada diantara 101-150 ppm dan termasuk kelompok lemah jika nilai IC_{50} -nya berada diantara 150 – 200 ppm (Permayta *et al.*, 2018). Semakin rendah nilai IC_{50} dari suatu senyawa maka senyawa tersebut memiliki kemampuan antioksidan yang semakin besar, hal ini dikarenakan nilai IC_{50} menunjukkan besaran konsentrasi dari suatu senyawa dalam menghambat radikal bebas DPPH sebanyak 50 % (Prayoga *et al.*, 2019).

2.8 Senyawa Fenolat

Senyawa fenolat merupakan senyawa dengan gugus OH yang terikat pada cincin aromatik dan banyak tersebar pada tumbuhan. Senyawa-senyawa fenolat memiliki aktivitas antioksidan dikarena sifat-sifat redoks yang dimilikinya, dimana senyawa fenolat dapat bereaksi sebagai donor atom hidrogen, agen pereduksi, serta peredam oksigen singlet (Prayoga *et al.*, 2019).

Pengujian total fenol dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Absorbansinya dibaca dengan menggunakan spektroskopupi UV-Vis pada panjang gelombang 760 nm. Kurva kalibrasi yang digunakan dibuat dari asam galat dengan konsentrasi 50 -300 $\mu\text{g/ml}$. Absorbansi sampel kemudian diinterpolasi kedalam persamaan regresi linear pada kurva standar (Senet *et al.*, 2018).

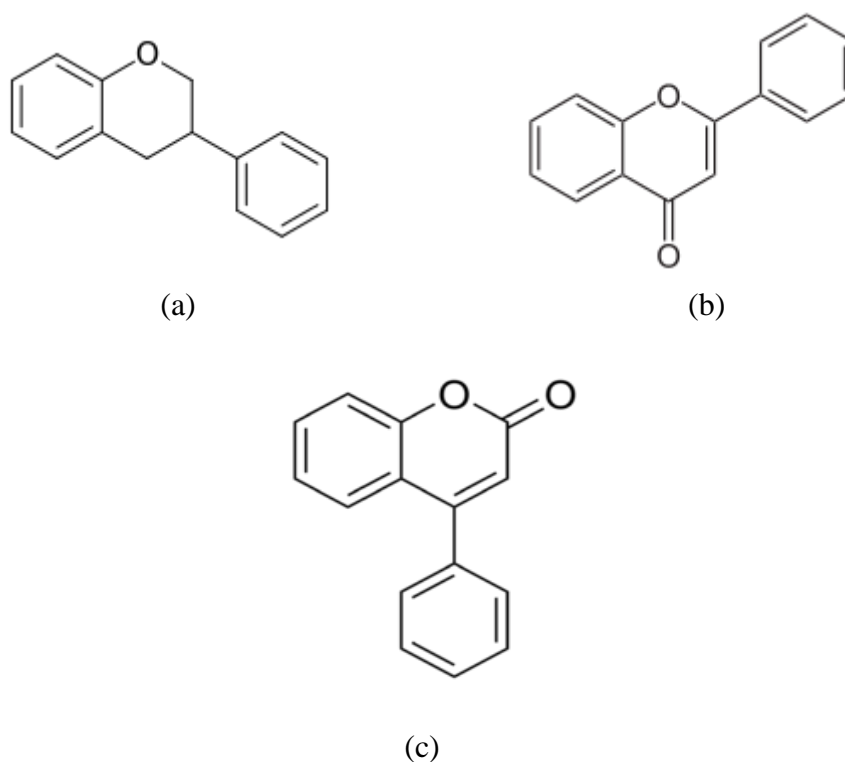
2.9 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya tidaknya senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu bahan alam (Senet *et al.*, 2018).

Tumbuhan dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang biasanya dimanfaatkan dalam industri farmasi. Flavonoid, Alkaloid, tanin, steroid, dan saponin merupakan beberapa golongan senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan. Metabolit sekunder merupakan hasil samping dari proses biosintesis, dengan struktur kimia yang kompleks. (Kumalasari *et al.*, 2019).

2.1.4 Flavonoid

Menurut Whardani *et al.*, 2018 flavonoid yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan merupakan senyawa yang tersusun dari 15 atom karbon dan terdapat di hampir banyak tumbuhan. Flavonoid telah banyak diidentifikasi dari berbagai tumbuhan, namun terdapat tiga kelompok yang umumnya dipelajari yaitu flavonol, flavon dan antosianin bisa dilihat Gambar 4.

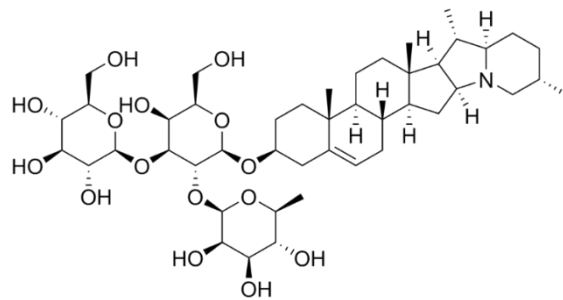


Gambar 4. (a) struktur isoflavon, (b) struktur flavon dan (c) struktur neoflavon (Whardani *et al.* 2018)

Flavonoid mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dari radikal bebas. Pengujian flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk magnesium, amil alkohol dan etanol 95 %. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga mengindikasikan terdapat senyawa flavonoid dalam sampel tersebut. Warna yang terbentuk pada hasil pengujian disebabkan karena terbentuknya garam flavilium (Whardani *et al.* 2018).

2.1.5 Saponin

Saponin merupakan satu senyawa glikosida amfipatik yang banyak terdapat dalam tumbuhan bisa dilihat gambar 5 (Whardani *et al.* 2018). Saponin dapat mengeluarkan busa jika dikocok dengan air dan dapat menyebabkan hemolisis sel darah pada tikus jika dalam konsentrasi rendah.

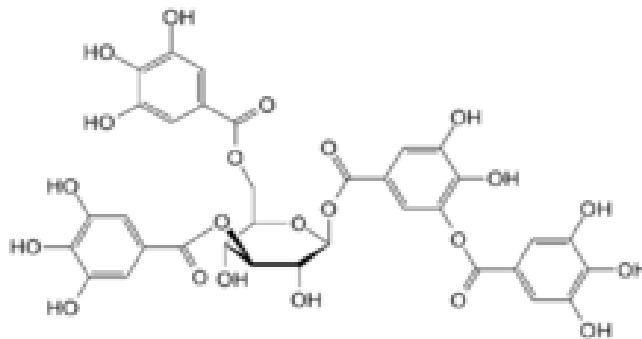


Gambar 5. Struktur kimia saponin solanin (Whardani *et al.* 2018)

Pengujian saponin dilakukan dengan mengamati pembentukan busa yang dikocok dalam air panas. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil dan tidak hilang ketika ditambahkan dengan 1 tetes HCl 2N. (Whardani *et al.* 2018).

2.1.6 Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol dengan rasa sepat dan kelat, dapat dengan protein serta menggumpalkan protein, bereaksi dengan asam amino maupun alkaloid struktur tannin bisa dilihat gambar 6. Tanin banyak ditemukan pada berbagai jenis tanaman, dimana pada tanaman tanin berfungsi sebagai pengatur pertumbuhan dan mekanisme perlindungan diri dari hama dan herbivora (Permata *et al.*, 2018).



Gambar 6. Asam tanat yang merupakan salah satu jenis tanin (Permata *et al.*, 2018).

Pengujian tanin dilakukan dengan menambahkan FeCl_3 1% ke sampel ekstrak. Hasil uji positif mengandung tanin ditunjukkan dengan warna larutan yang menjadi hijau kehitaman (Permata *et al.*, 2018).

2.10 Total Fenol

Senyawa fenol adalah angka ragam senyawa dan berasal dari tumbuh-tumbuhan yang mempunyai ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Umumnya merupakan mudah larut dalam air, karena sering kali berkaitan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat di dalam vakuola sel. Penentuan terhadap kandungan total fenol dapat dilakukan dengan cara menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Metode

ini berdasarkan dengan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolat. (Huang & Ingber, 2005). Senyawa fenol adalah kelas utama antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan. Senyawa ini diklasifikasikan menjadi dua bagian yaitu fenol sederhana dan juga polifenol (Marlina *et al.*, 2005).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Agustus 2021 hingga bulan Agustus 2022 di Laboratorium kimia dan biokimia pangan Fakultas Teknik dan Informatika Universitas PGRI Semarang.

3.2 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu peralatan gelas standar, timbangan digital, timbangan analitik, rotary evaporator, corong buchner, spektroskopi UV-Vis, corong pisah, dan vortex.

3.3 Bahan

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah parijoto, metanol teknis, metanol p.a, n-heksan, etil asetat, larutan DPPH, akuades, HCL 2N, etanol 95%, FeCl₃ 1%, larutan Folin-Ciocalteu, sodium bikarbonat, dan asam askorbat.

3.4 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor yaitu jenis pelarut yang digunakan. Pelarut fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 3 jenis pelarut fraksi yaitu metanol, n-heksan dan etil asetat. Penelitian ini diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 9 unit percobaan.

3.5 Tahapan Penelitian

3.3.1 Pembuatan Simplisia

Sebanyak 1 kg buah parijoto dibersihkan dengan air mengalir dan di sortasi basah kemudian dipotong dan dikeringkan dengan *cabinet drying* dengan suhu 50°C. Kemudian buah parijoto kering dihaluskan dengan *blender* hingga membentuk serbuk. Serbuk buah parijoto disaring menggunakan ayakan 80 mesh dan dihasilkan simplisia serbuk buah parijoto.

3.3.2 Pembuatan Ekstrak Kasar

Pembuatan ekstrak kasar buah parijoto dilakukan maserasi.

3.3.2.1 Maserasi

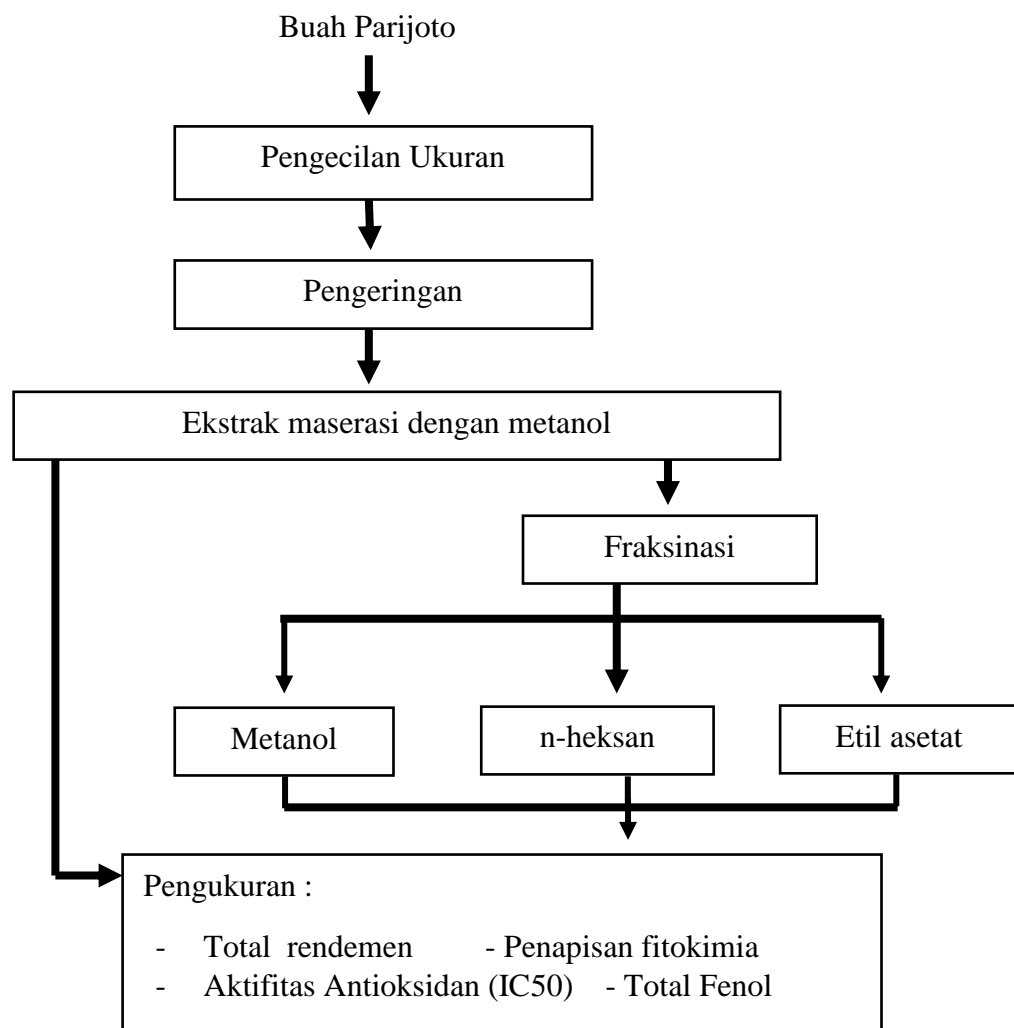
Masing-masing sebanyak 100 gram simplisia buah parijoto dimaserasi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol 95 % (1:10), dimaserasi selama 3 hari dan dilanjutkan dengan remaserasi selama 1 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Maserat dipisahkan dari residu dengan menggunakan corong buchner dan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C. (Vifta dan Advistasari, 2018; Ningsih *et al.* 2020).

Persentase bobot rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental (ml)}}{\text{Bobot sebelum diekstrak (ml)}} \times 100 \%$$

3.3.3 Fraksinasi Ekstrak Kasar

Sebanyak 10 gram ekstrak kasar dilarutkan dengan 60 mL aquades dan dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian di partisi dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Pada tahap awal fraksinasi dilakukan dengan menambahkan pelarut metanol (1:1) dan dipisahkan hingga fase metanol jenuh. Fraksinasi dilanjutkan dengan pelarut n-heksan (1:1), kemudian pada tahap akhir fraksinasi dilakukan dengan menambahkan pelarut etil asetat (1:1). Semua fase yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator (Vifta *et al*, 2019) bisa yang disajikan Gambar 7.



Gambar 7. Diagram alir penelitian

3.6 Analisis Penelitian

3.3.4 Penapisan Fitokimia

Penapisan senyawa aktif dari buah parijoto dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan pereaksi warna untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekundernya (Vifta dan Advistasari, 2018). Adapun pengujian yang dilakukan yaitu : Uji saponin, uji tanin, uji flavonoid dan uji polifenol.

3.3.4.1 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan mengamati pembentukan busa setelah pengocokan dalam air panas. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil yang akan terlihat selama 5 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N. (Whardani *et al.* 2018).

3.3.4.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan pada 1 ml sampel serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 ml amil alkohol (campuran etanol 95 % dan asam klorida 37 % dengan volume yang sama) dan 4 ml etanol 95 % kemudian campuran dikocok. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga mengindikasikan terdapat senyawa flavonoid (Whardani *et al.* 2018).

3.3.4.3 Uji Polifenol

Uji fenolik dilakukan dengan mereaksikan 1 ml ekstrak dengan larutan FeCl_3 1 %. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman atau hijau kehitaman (Whardani *et al.* 2018).

3.3.4.4 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan mereaksikan 1 ml ekstrak dengan 10 ml akuades kemudian disaring. Setelah itu ditambahkan dengan 3 tetes FeCl_3 1% ke dalam

hasil saringan. Hasil uji positif mengandung tanin ditunjukkan dengan warna larutan yang menjadi hijau kehitaman (Permata *et al.*, 2018).

3.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) mengacu pada metode yang digunakan oleh Holil dan Griana (2020) dengan sedikit modifikasi. Masing-masing ekstrak air, metanol, n-heksan dan etil asetat diencerkan dengan konsentrasi 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml, 250 µg/ml. Diambil masing-masing dari larutan ekstrak, larutan standar dan larutan blanko (larutan DPPH terdiri dari 2 ml DPPH 0,1 mM dan 1 ml metanol) dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Ke dalam masing-masing tabung reaksi ditambahkan 3 ml DPPH 0,8 mM kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit ditempat gelap. Absorbansi larutan ekstrak dan blanko diukur pada panjang gelombang maksimal 517 nm, sedangkan larutan asam askorbat diukur pada panjang gelombang maksimal 515 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Dari data absorbansi, persen inhibisi dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan berikut :

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

3.3.6 Uji Total Fenol

Uji total fenol merujuk pada metode yang digunakan oleh Senet *et al.* (2018) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 0,5 gr ekstrak (metanol, n-heksan dan etil asetat) dilarutkan ke dalam labu ukur 5 ml sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 100 mg/ml. 0,5 ml ekstrak 100 mg/ml dilarutkan ke dalam labu 5 ml hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/ml. Sebanyak 0,5 ml ekstrak kemudian

direaksikan dengan 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu dan diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah itu ditambahkan sodium bikarbonat 4 ml dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Absorbansi dibaca menggunakan spektroskop UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Sebagai kurva kalibrasi digunakan asam galat dengan konsentrasi 50 -300 $\mu\text{g/ml}$. Absorbansi sampel diinterpolasi kedalam persamaan regresi linear pada kurva standar.

3.7 Analisa Data

Data hasil pengujian dianalisis dengan One Way Anova. Apabila hasil menunjukkan berbeda nyata antara perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5 %. Analisis data dilakukan dengan program SPSS.

3.8 Hipotesis

Ekstrak methanol yang dilakukan fraksinasi dengan menggunakan perbedaan jenis pelarut dapat berpengaruh penapisan fitokimia, aktivitas antioksidan, dan total fenol.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Rendemen Ekstrak

Pembuatan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*.) dilakukan dengan menyari serbuk buah parijoto dengan pelarut metanol 95%. Tujuan penyarian adalah untuk memisahkan senyawa pada simplisia. Ekstrak buah parijoto mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar, semi polar, sampai dengan senyawa polar, sehingga perlu dilakukan proses fraksinasi untuk memisahkan beberapa senyawa tersebut berdasarkan kepolarannya.

Fraksinasi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah dikarenakan alat dan cara pengerjaannya relatif sederhana dan memungkinkan dua jenis pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang digunakan pada saat fraksinasi antara lain, n-heksan, etil asetat dan metanol. Senyawa non-polar seperti alkaloid yang berada pada ekstrak metanol akan terdistribusi kedalam pelarut n-heksan, senyawa alkaloid yang bersifat semi polar akan terdistribusi kedalam pelarut etil asetat dan senyawa flavonoid dan tanin yang bersifat polar akan terdistribusi dengan pelarut metanol. Hasil perhitungan rendemen ekstrak buah parijoto dengan methanol dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4. 1 Hasil Rendemen simplisia buah parijoto

Rendemen	Berat basah (gr)	Berat kering (gr)	Rendemen (%)
Buah Parijoto	2220	322	85,5

Tabel 4. 2 Hasil rendemen ekstrak kasar dengan pelarut methanol buah parijoto

Rendemen	Berat larutan (ml)	Berat ekstrak (ml)	Rendemen (%)
Buah Parijoto	1000	61,3	6,13

Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Selain itu, data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak. Sebagaimana yang telah dilaporkan Harbone (2013) bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir ekstrak methanol dengan berat awal larutan buah parijoto dikalikan dengan 100%. Hasil rendemen buah parijoto yaitu sebesar 6,13%. Uji fitokimia secara kualitatif dilakukan sebagai uji pendahuluan yang dilakukan terhadap ekstrak buah parijoto dengan tujuan untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi warna.

Tabel 4. 3 Hasil rendemen fraksinasi ekstrak kasar buah parijoto

Larutan	Berat larutan (ml)	Berat Fraksi (ml)	Rendemen (%)
Methanol	20	6.76	33.8
Etil asetat	20	3.90	19.5
n-Heksan	20	9.17	45.8

4.2 Penapisan Fitokimia

Ekstraksi buah parijoto dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut methanol yang bertujuan agar senyawa dapat terekstrak dengan baik dan tidak mengalami dekomposisi. Berdasarkan Hasil Tabel 4.2 nilai Rendemen dengan pelarut methanol menunjukkan hasil sebesar 6,13%. Besar kecilnya hasil rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh keefektifan dalam proses ekstraksi. Menurut Febrina (2015) faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi adalah waktu, suhu, pengadukan dan pelarut. Selain jenis pelarut, ukuran sampel juga mempengaruhi jumlah rendemen. Semakin kecil luas permukaan sampel akan semakin memperluas kontak dan meningkatkan interaksi dengan pelarut (Sineke et. al., 2016). Berdasarkan Tabel 4.3 diperoleh nilai rendemen fraks ekstrak n-heksan lebih besar dari dua larutan yang lain yakni 45.8%. Menurut wahyu (2018) Nilai ini diduga dipengaruhi komponen, seperti fenol, klorofil a, dan karotenoid. Tiga komponen tersebut mempunyai hasil yang sinergis, yaitu nilai dari ekstrak n-heksana lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol.

Tabel 4. 4 Uji penapisan fitokimia ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa.*)

no	Senyawa	Penapisan fitokimia		
		Ekstrak metanol	Ekstrak n-heksan	Ekstrak etil asetat
1	Flavonoid	+	-	+
2	Polifenol	+	+	+
3	Saponin	+	-	+
4	Tanin	+	-	+

Uji penapisan fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji senyawa flavonoid, saponin, polifenol, dan tannin dapat dilihat pada Tabel 4.4. Hasil penapisan fitokimia dengan pelarut ekstrak metanol dan pada pelarut ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, polifenol, saponin dan tanin. Sedangkan hasil penapisan fitokimia dengan pelarut ekstrak n-heksan menunjukkan bahwa buah parijoto mengandung senyawa polifenol. Hasil uji fitokimia yang dilakukan dengan pelarut methanol, etil asetat dan n-heksan menunjukkan bahwa pada pelarut metanol dan pelarut etil asetat menunjukkan bahwa buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, polifenol, saponin dan tanin. Sedangkan hasil uji fitokimia dengan pelarut ekstrak n-heksan menunjukkan bahwa buah parijoto mengandung senyawa polifenol. Flavonoid merupakan senyawa polifenol merupakan senyawa yang paling banyak terdapat di dalam tumbuhan (Kiromah *et al.*, 2021). Sementara itu adanya tanin menunjukkan dalam buah parijoto menyebabkan rasa sepat. Hasil uji fitokimia pada pelarut n-heksan tidak terdapat flavonoid, saponin atau tanin. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut lebih banyak terpartisi ke pelarut semi polar ke polar sehingga pada fraksi non polar tidak terdapat senyawa tersebut (Prayoga *et al.*, 2019). Hasil ini sesuai dengan penelitian Niswah, *et al.* (2014) yang

menunjukkan adanya senyawa golongan terpenoid dalam ekstrak n-heksan buah parijoto, sedang dalam ekstrak etil asetat dan metanol terdapat senyawa golongan tanin, flavonoid, saponin dan glikosida.

4.3 Total Fenol

Pengujian penapisan senyawa aktif dilanjutkan dengan penentuan kadar total fenol pada ekstrak buah parijoto dengan tujuan memastikan adanya kandungan fenol dengan konsentrasi tertentu yang berpotensi sebagai antioksidan. Pada hasil uji total fenol didapatkan kadar fenol total ekstrak buah parijoto pada pelarut Ethil asetat sebanyak 38,75204 μg GAE/gr, Methanol sebanyak 68,828 μg GAE/gr, dan pada Nheksan sebanyak 146,29 μg GAE/gr.

Tabel 4. 5 Nilai Total Fenol Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa.*)

Fraksi	Kadar total fenol (μg GAE/gr)
Methanol	68,83 \pm 2,63 ^a
Etil asetat	38,75 \pm 1.70 ^b
Nheksan	146,29 \pm 0.91 ^c

Menurut Anwar & Triyasmono (2017), menyatakan bahwa tingginya kandungan flavonoid juga berkaitan dengan kandungan total fenol yang terdapat dalam ekstrak buah tersebut. Pengujian total fenol bertujuan menentukan senyawa fenolik yang terkandung di dalam sampel, bila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan tinggi (Gross, 1991). Hasil penelitian menunjukkan hubungan yang positif, karena nilai total fenol ekstrak n-heksan sinergis dengan aktivitas antioksidan ekstrak nheksana *Medinilla speciosalume* mengandung senyawa fenolik yang dapat menjadi bahan dasar sebagai aktivitas antioksidan. tidak dilakukan proses identifikasi sehingga tidak diketahui senyawa fenol apa saja yang terdapat dalam ekstrak.

Klorofil a dan karotenoid berperan sebagai antioksidan. Menurut (Sangi *et al*, 2008) Triterpenoid merupakan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan, biasanya larut dalam pelarut non-polar, sedangkan Sheikh *et al*, (2009) senyawa fenolik terbanyak tidak selalu terdapat dalam pelarut polar, namun tergantung dari struktur senyawa fenoliknya karena pada *Turbinaria conoides* kadar total fenol ekstrak n-heksana lebih tinggi dibanding ekstrak metanol (Setyati *et al*, 2017). Damogalad *et. al.* (2013) menyatakan flavonoid sebagai antioksidan dan klorofil a dapat meredam radikal bebas karena adanya logam Mg yang terkelat dan kerangka porfirin yang dimilikinya. Logam yang terkelat akan membuat radikal bebas cenderung memberikan elektronnya kepada logam Mg, sehingga dapat menetralkan karakter radikal bebas. Logam Mg pada klorofil dapat berpengaruh pada aktivitas antioksidan klorofil jika dalam bentuk terkelat bukan dalam bentuk ionik (Gross, 1991).

4.4 Kandungan Antioksidan

Kadar fenol total ekstrak buah parioto pada pelarut Ethil asetat sebanyak 38,75204 $\mu\text{g GAE/gr}$, Methanol sebanyak 68,828 $\mu\text{g GAE/gr}$, dan pada Nheksan sebanyak 146,29 $\mu\text{g GAE/gr}$. Kandungan total fenol dengan aktivitas antioksidan dengan pelarut methanol, etil asetat dan n-heksan menunjukkan terdapat hubungan yang signifikan antara kandungan total fenol dengan aktivitas antioksidan dari ekstrak buah parioto ($p < 0,05$). Sedangkan hasil analisa statistik kandungan total fenol dengan aktivitas antioksidan dari 3 pelarut yaitu methanol, etil asetat dan n-heksan didapatkan ($p > 0,05$) yang menunjukkan tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kandungan total fenol dengan aktivitas antioksidan dari pelarut methanol, etil asetat dan n-heksan. Kandungan total

fenol paling tinggi terdapat pada pelarut Nheksan (Tabel 4.5), hasil aktivitas antioksidan (IC50) paling tinggi terdapat pada pelarut n-heksan (Tabel 4.6.).

Tabel 4. 6 Aktivitas antioksidan pada fraksinasi ekstrak buah parijoto dengan pelarut methanol, etil asetat dan n-heksan

Fraksinasi	IC50
methanol	7.59 ± 0.42 ^a
ethyl asetat	4.13 ± 2.01 ^b
n-heksan	1.73 ± 0.09 ^c

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan pelarut methanol, n-heksan, dan etil asetat. Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Hasil aktivitas antioksidan tersaji pada tabel 4.6. Proses reaksi antara radikal DPPH dan senyawa antioksidan terjadi melalui mekanisme donasi atom hidrogen. Senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dapat menyerahkan hidrogen dari gugus hidroksilnya kepada radikal bebas (Prayoga *et al.*, 2019). Senyawa antioksidan yang direaksikan dengan DPPH tersebut akan tereduksi, sehingga larutan yang semula memiliki warna ungu akan menjadi berwarna kuning. Hal ini terjadi karena atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa aktif pada sampel bereaksi dengan molekul DPPH, sehingga akan terbentuk senyawa difenil pikril hidrazil (Kiromah *et al.*, 2021). Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu dengan inhibition concentration (IC50). Penentuan nilai IC50 pada setiap perlakuan dilakukan dengan tiga kali ulangan yang bertujuan untuk memperoleh jumlah dosis ekstrak yang dapat menurunkan intensitas serapan atau penangkapan radikal bebas DPPH sebesar 50%.

Berdasarkan tabel 4.6. menunjukkan pelarut methanol memiliki nilai IC50 paling besar jika dibandingkan dengan pelarut lainnya dengan nilai IC50 sebesar

7.59 ± 0.42^a µg/ml, sedangkan pada pelarut n-heksan menunjukkan nilai IC50 terendah yaitu sebesar 1.73 ± 0.09^a µg/ml. Menurut Didit *et al.* (2017), aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah, suatu senyawa antioksidan memiliki senyawa yang kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm (<50 ppm), senyawa dikatakan sedang jika nilai IC50 berkisar antara 100-150 ppm dan lemah jika nilainya berkisar antara 150-200 ppm (Purwanto *et al.*, 2017). Buah parijoto dengan pelarut n-heksan dengan nilai IC50 sebesar 1.73 ± 0.09^a µg/ml.

Hasil pengujian antioksidan menunjukkan terdapat hubungan aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 ($p < 0,05$). Buah parijoto dengan pelarut n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kiromah *et al* (2021), bahwa semakin kecil nilai IC50 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang terkandung dalam buah parijoto tersebut semakin tinggi. Pelarut n-heksan bersifat non-polar dan pelarut non-polar cenderung menarik senyawa non-polar seperti lipid dan resin yang juga terkandung pada ekstrak (Purwanto *et al.*, 2017). Hal ini diduga karena nilai senyawa fenol, klorofil a dan karotenoid menunjukkan nilai dengan pelarut n-heksan lebih tinggi dibanding metanol. Hal tersebut berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, semakin tinggi kadar senyawa tersebut maka semakin kuat aktivitas antioksidannya (Sanger *et al.*, 2013).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Hasil uji fitokimia pada ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*.) dengan pelarut ekstrak metanol dan pelarut ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa buah parijoto mengandung senyawa flavonoid, polifenol, saponin dan tanin. Sedangkan hasil penapisan fitokimia dengan pelarut ekstrak n-heksan menunjukkan bahwa buah parijoto mengandung senyawa polifenol. Nilai total fenol didapatkan pada pelarut etil asetat sebanyak 38,75204 $\mu\text{g GAE/gr}$, pelarut Methanol sebanyak 68,828 $\mu\text{g GAE/gr}$, dan pada pelarut n-heksan sebanyak 146,29 $\mu\text{g GAE/gr}$.
2. Nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) didapatkan pada fraksi methanol dengan rata - rata $7.59 \pm 0.42a$ ($\mu\text{g/ml}$); fraksi etil asetat $4.13 \pm 2.01a$ ($\mu\text{g/ml}$) dan pelarut nheksan $1.73 \pm 0.09a$ ($\mu\text{g/ml}$)

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemurnian fraksinasi ekstrak terhadap aktivitas antioksidan buah parijoto (*Medinilla speciosa*.) dengan menggunakan pelarut dan metode lainnya.
2. Perlu dilakukan pengujian terhadap aktivitas antioksidan pada buah parijoto (*Medinilla speciosa*.) secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, Sukandar, & Muawanah, , 2015. **Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam.** *Jurnal Kimia Valensi*, 1(2).
- Ameliawati, R. 2018. **Pengaruh umur panen dan jenis pelarut terhadap kandungan total fenolik, antosianin dan aktivitas antioksi dan ekstrak buah pariijoto (*Medinilla speciosalume*).** *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Anwar, K. & Triyasmono, , 2017. **Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*).** *Jurnal Pharmascience*, 3(1), pp.83-92.
- BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan). 2013. **ISO Indonesia Volume 48.** Jakarta: PT. ISFI. Jakarta.
- Chandra B, Sari PR, Misfadhila S, Azizah Z, dan Asra R. 2019. **Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kemangi (*Ocimum tenuiflorum L.*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).** *Journal of Pharmaceutical and Science* 2 (2): 1-8.
- Damogalad, V., Edy, H.J., & Supriati, H.S. 2013. **Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus L Merr*) Dan Uji In Vitro Nilai Sun Protecting Factor (Spf).** *Pharmacon*. 2(2):12-16.
- Gross, J. 1991. Pigments in Vegetable. Chlorophylls and Carotenoids. *Van Nostrand Reinhold*. New York

- Holil K, dan Griana TP. 2020. **Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Metode DPPH.** *J. Islamic Pharm* 5 (1): 28-32.
- Kiromah, N.Z.W., Husein, S. & Rahayu, T.P., 2021. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ganitri (*Elaeocarpus Ganitrus Roxb.*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidazil).** *Jurnal Farmasi Indonesi*, 18(1).
- Kumalasari A, Handayani W, dan Siswoyo TA. 2019. **Screening Fitokimia dan Studi Aktivitas Ekstrak Daun Sintok (*Cinnamomum sintoc BI.*) Sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia.** *Berkala Sains* VII (1): 24-27.
- Luhurningtyas FP, Vifta RL, Syarohmawati N, dan Candra MA. 2020. **Cholestrol Lowering effect of Chitosan Nanoparticles Using Parijoto Fruits Extract.** *Jurnal Farmasi Sains dna Komunitas* 17 (2): 102-111
- Luhurningtyas FP. 2020. **Parijoto Fruit Extract Nanoparticles As Glucose-Lowering Agent in Vitro.** *Jurnal Kesehatan Prima* 14 (2): 75-84.
- Marlina, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). **The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (*Sechium edule Jacq. Swartz.*).** *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 3(1), 26–31. <https://doi.org/10.13057/biofar/f030106>

- Melinda S, Annisa E dan Sasikirana W. 2021. **Potensi Sitotoksik Ekstrak Buah Parijoto (*Medenilla speciosa*) Terpurifikasi Pada Sel Kanker Serviks Hela. *Generic : Journal of Research in Pharmacy* 1 (2): 44-52.**
- Ningsih DS, Henri, Roanisca O, dan Mahardika RG. 2020. **Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baeckea frutescens L.*). *Biotropika: Journal of Tropical Biology* 8 (3): 178-185**
- Peloan T, dan Kaempe H. 2020. **Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak Daun Gedi Merah Terhadap Kandungan Total Flavonoid. *Pharmacy Medical Journal* 3 (2): 64-69.**
- Permata AN, Kurniawati A, dan Lukiati B. 2018. **Screening Fitokimia, Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba pada Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* 3(1) : 64-76.**
- Prayoga DGE, Nocianitri KA dan Puspawati NN. 2019. **Identifikasi senyawa fitokimia dan Aktivitas antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum Br.*) Pada Berbagai jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 8 (2): 111-121.**
- Prayoga, D.G.E., Nocianitri, K.A. & Puspawati, N.N., 2019. **Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*gymnema reticulatum br.*) Pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(2).**
- Pujiastuti E, dan Islamiyati R. 2021. **Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Air Ranting Buah Parijoto (*Medinilla speciosalume*) Dengan**

- Peredam Radikal Bebas DPPH.** *Cendikia Journal of Pharmacy* 5 (2): 135-144.
- Purwanto, D., Bahri, & Ridhay, , 2017. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia Arborea Blume.*) Dengan Berbagai Pelarut.** *KOVALEN*, 3(1), pp.24-32.
- Sanger, G., Widjanark, S.B., Kusnadi, J., & Berhimpon, S. 2013. **Antioxidant Activity of Methanol Extract f Sea Weeds Obtained from North Sulawesi.** *Food Sci. Quality Manag.* 19:2224-6088.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R., Simbala, H.E., & Makang, V.M. 2008. **Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara.** *Chem. Prog.* 1(1):47-53.
- Senet MRM, Raharja IGMAP, Darma IKT, Prastakarini KT, Dewi NMA, dan Parwata IMO. 2018. **Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan Total Fenol dari Akar Kersen (*Muntingia calabura*) Serta Aktivitasnya Sebagai Antioksidan.** *Jurnal Kimia* 12 (1): 13-18
- Setyati, W. A., Zainuddin, M., & Pramesti, R. 2017. **Aktivitas Antioksidan Senyawa Non Polar dan Polar Dari Ekstrak Makroalga *Acanthophora muscoides* Dari Pantai Krakal Yogyakarta.** *Jurnal Enggano*, 2(1):68-77
- Sheikh, T.Z.B., Yong, C.L., & Lian, M.S. 2009. **In vitro antioxidant activity of the hexane and methanolic extracts of *Sargassum baccularia* and *Cladophora patentiramea*.** *J. App. Sci.* 9(13):2490- 2493.
- Susiloningrum D, dan Indrawati D. 2020. **Penapisan Fitokimia dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga***

- Valeton & Zijp*) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut. *Cendikia Utama: Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat* 9 (2): 126-136.
- Vifta RL, dan Advistasari YD. 2018. **Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*).** *Prosiding Seminar Nasional Unimus, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang*, pp. 8-14
- Vifta RL, Wilantika dan Advistasari YD. 2019. **Studi Invitro Potensi dan Aktivitas Antidiabetes Fraksi Etil Asetat Buah Parijoto (*Mednilla speciosa B.*).** *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* 12 (2): 93-102.
- Viftra RL, Rahayu RT, dan Luhurningtyas FP. 2019. **Uji Aktivitas Antioksidan dan Kombinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosalume*) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinalle Roscoe van Rubrum*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6- Asam Sulfonat).** *Indonesian Journal of Chemical Science* 8(3): 197-201.
- Wardhani RRAAK, Akhyar O, dan Prasiska E. 2018. **Analisis Skrining Fitokimia, Kadar Total Fenol-Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Kayu Tanaman Galam Rawa Gambut (*Melaleuca cajuputi roxb*).** *Al Ulum Sains dan Teknologi* 4(1): 39-45.
- Wardhani RRAAK, Akhyar O, dan Prasiska E. 2018. **Analisis Skrining Fitokimia, dan Kadar Total Fenol-Flavonoid Ekstrak Daun dan Buah Tanaman Galam Rawa Gambut (*Melaleuca cajuputi ROXB*).** *Quantm: Jurnal Inovasi Pendidikan Sains* 9 (2): 133-143.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Rendemen

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot kering (gr)}}{\text{Bobot basah (gr)}} \times 100 \%$$

1. Simplisia Kering

$$= 0,855 \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1898 \text{ (gr)}}{2220 \text{ (gr)}} \times 100 \%$$

$$= 85.5\%$$

2. Ekstrak Methanol Buah Parijoto

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental (ml)}}{\text{Bobot sebelum diekstrak (ml)}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{61.3 \text{ (ml)}}{1000 \text{ (ml)}} \times 100 \%$$

$$= 0.0613 \times 100\%$$

$$= 6.13 \%$$

3. fraksinasi Ekstrak Buah Parijoto

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot fraksinasi Ekstrak (ml)}}{\text{Bobot ekstrak kental (ml)}} \times 100 \%$$

I. Frakasinasi Methanol

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{6.76 \text{ (ml)}}{20 \text{ (ml)}} \times 100 \%$$

$$= 0.338 \times 100\%$$

$$=33,8\%$$

II. Fraksinasi Etil Asetat

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{3.90 \text{ (ml)}}{20 \text{ (ml)}} \times 100 \%$$

$$= 0.195 \times 100\%$$

$$=19,5\%$$

III. Fraksinasi n-Heksan

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{9.17 \text{ (ml)}}{20 \text{ (ml)}} \times 100 \%$$

$$= 0.458 \times 100\%$$

$$= 45,8\%$$

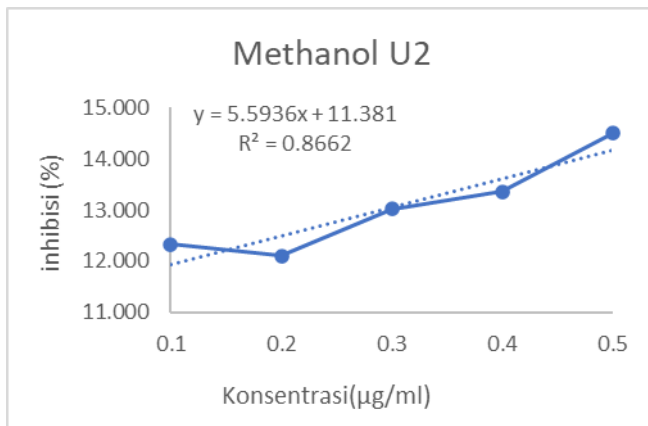
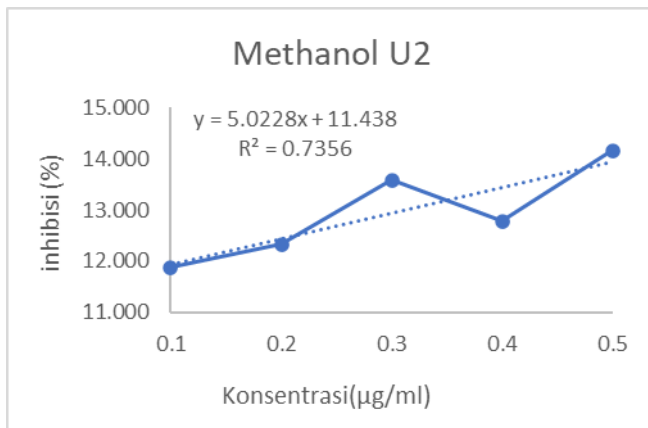
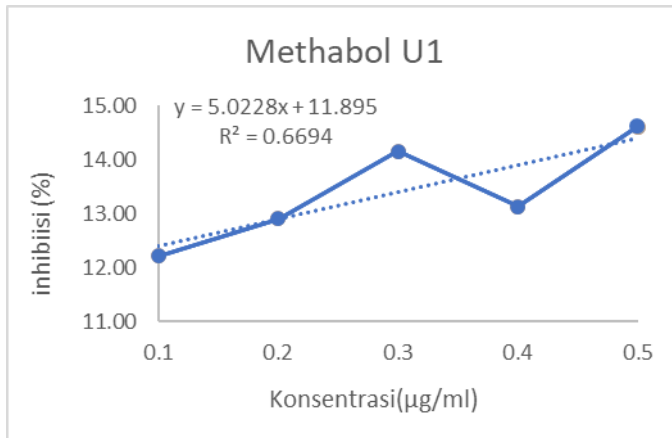
Lampiran 2. Perhitungan Antioksidan Fraksinasi Ekstrak buah pariijoto

i) Fraksinasi Methanol

U1			
Konsentrasi($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.876	0.000	7.586
0.1	0.769	12.215	
0.2	0.763	12.900	
0.3	0.752	14.155	
0.4	0.761	13.128	
0.5	0.748	14.612	

U2			
Konsentrasi($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.876	0.000	7.677
0.1	0.772	11.872	
0.2	0.768	12.329	
0.3	0.757	13.584	
0.4	0.764	12.785	
0.5	0.752	14.155	

c			
Konsentrasi($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.876	0.000	6.904
0.1	0.768	12.329	
0.2	0.770	12.100	
0.3	0.762	13.014	
0.4	0.759	13.356	
0.5	0.749	14.498	

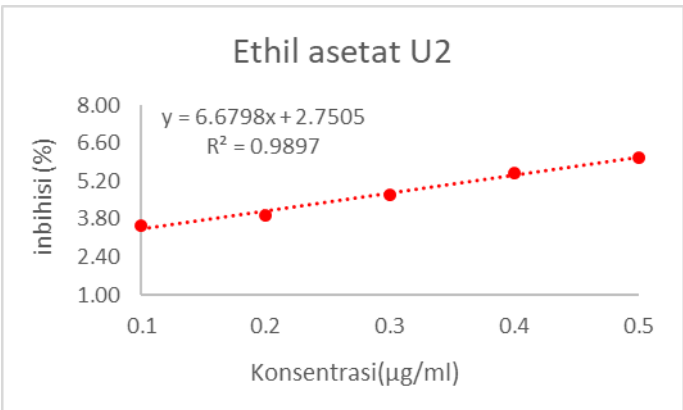
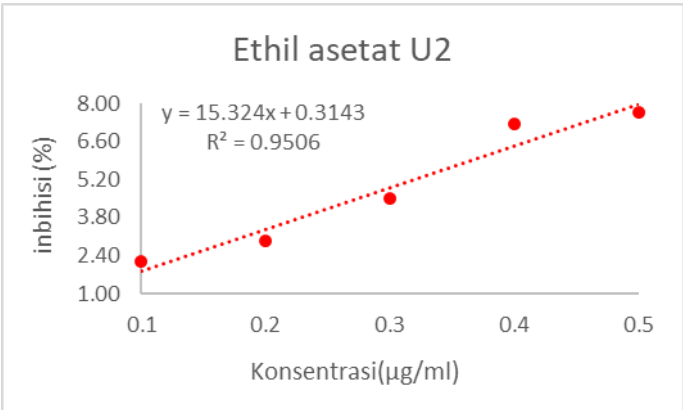
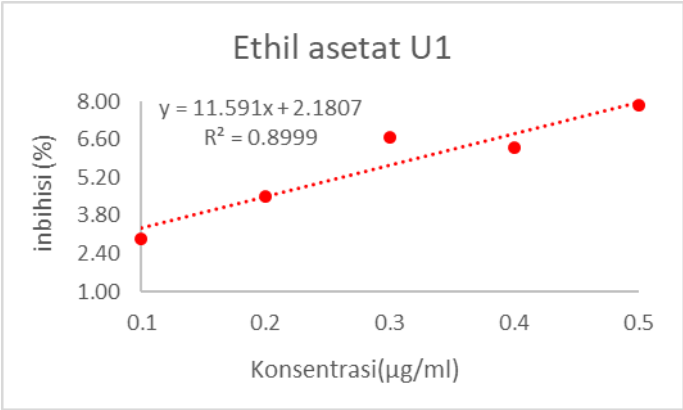


ii) Fraksinasi Etil Asetat

U1			
Konsentrasi(μ g/ml)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.509	0.000	4.126
0.1	0.494	2.947	
0.2	0.486	4.519	
0.3	0.475	6.680	
0.4	0.477	6.287	
0.5	0.469	7.859	

U2			
Konsentrasi(μ g/ml)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.509	0.000	3.242
0.1	0.498	2.161	
0.2	0.494	2.947	
0.3	0.486	4.519	
0.4	0.472	7.269	
0.5	0.470	7.662	

U3			
Konsentrasi(μ g/ml)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.509	0.000	7.073
0.1	0.491	3.536	
0.2	0.489	3.929	
0.3	0.485	4.715	
0.4	0.481	5.501	
0.5	0.478	6.090	

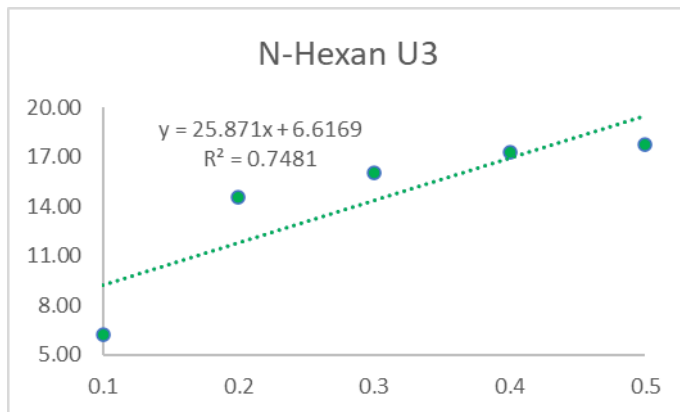
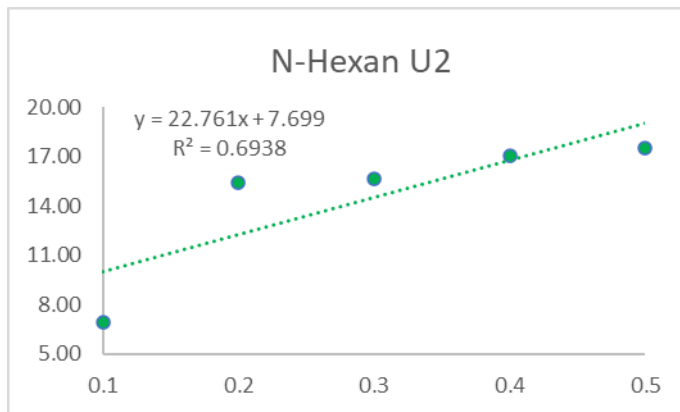
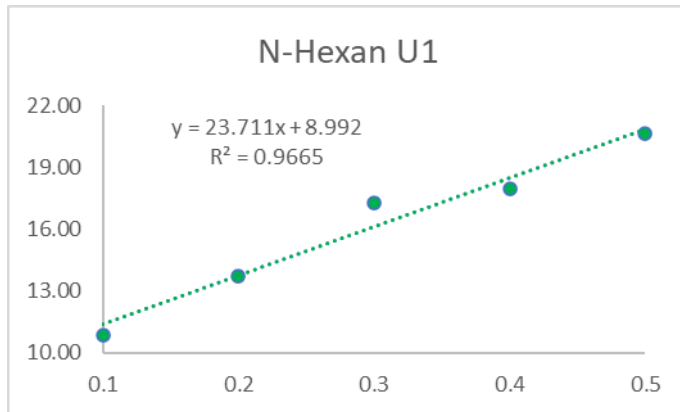


iii) Fraksinasi n-Heksan

U1			
Konsentrasi($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.873	0.000	1.729
0.1	0.778	10.882	
0.2	0.753	13.746	
0.3	0.722	17.297	
0.4	0.716	17.984	
0.5	0.693	20.619	

U2			
Konsentrasi($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.804	0.000	1.858
0.1	0.748	6.965	
0.2	0.680	15.423	
0.3	0.678	15.672	
0.4	0.667	17.040	
0.5	0.663	17.537	

U3			
Konsentrasi($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	%inbihisi	IC50
0	0.804	0.000	1.677
0.1	0.754	6.219	
0.2	0.687	14.552	
0.3	0.675	16.045	
0.4	0.665	17.289	
0.5	0.661	17.786	



- **Uji normalitas spss**

ulangan	larutan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	methanol	.346	3	.	.837	3	.206
	ethyl asetat	.301	3	.	.912	3	.424
	N-heksan	.275	3	.	.943	3	.540

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan nilai sig. pada masing – masing larutan diketahui bahwa didapat nilai > 0.05 sehingga dapat disimpulkan data berdistribusi normal.

- **Uji ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.736	2	23.868	17.004	.003
Within Groups	8.422	6	1.404		
Total	56.157	8			

Berdasarkan output tabel Anova diatas didapat nilai sig. < 0.05 maka dapat disimpulkan ke tiga larutan berbeda secara nyata.

- **Uji homogenitas**

ulangan

Duncan^a

larutan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
N-heksan	3	1.7567		
ethyl asetat	3		3.4800	
methanol	3			7.3900
Sig.		1.000	1.000	1.000

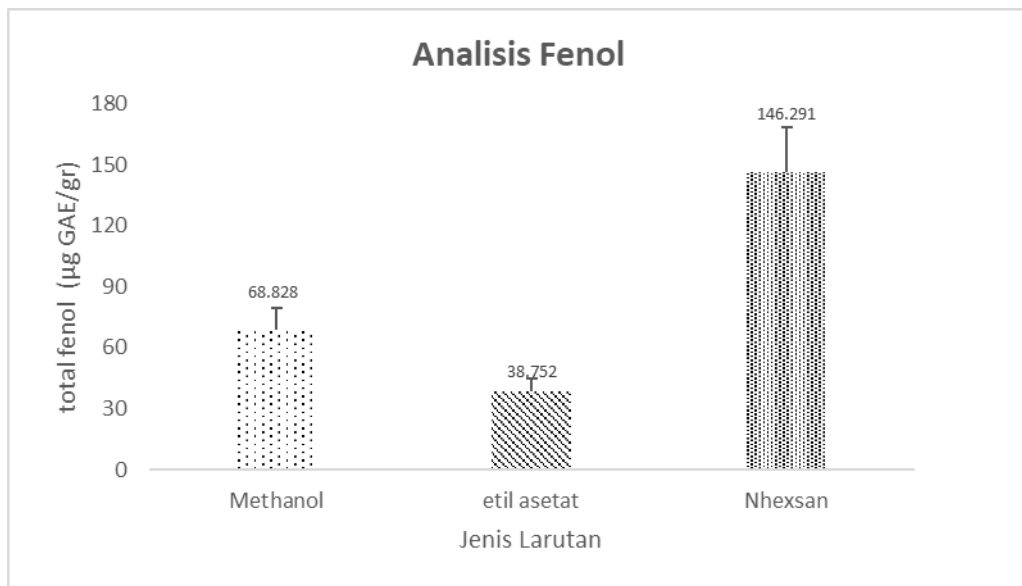
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 3. Perhitungan Total Fenol Fraksinasi Ekstrak buah Parijoto

	ulangan	Gram bahan (gram ekstrak)	ml ekstrak	Kons (gram/ml)	sampel	Absorbansi	Konsentrasi (mg)	Konsentrasi (mg)
Methanol	U1	5.004	100	0.05004	0.5	0.311	25.02	0.6255
	U2	5.004	100	0.05004	0.5	0.326	25.02	0.6255
	U3	5.004	100	0.05004	0.5	0.334	25.02	0.6255
Etil asetat	U1	5.001	100	0.050011	0.5	0.183	25.0055	0.6251375
	U2	5.001	100	0.050011	0.5	0.189	25.0055	0.6251375
	U3	5.001	100	0.050011	0.5	0.198	25.0055	0.6251375
Nhexsan	U1	5.009	100	0.05009	0.5	0.669	25.045	0.626125
	U2	5.009	100	0.05009	0.5	0.664	25.045	0.626125
	U3	5.009	100	0.05009	0.5	0.672	25.045	0.626125

konsentrasi fenol (µg/ml)	konsentrasi fenol (mg/g)	∑ fenol dlm 0,5 ml (µg)	∑ fenol dlm 100 ml (µ)	∑ fenol /gr sampel (µg GAE/gr)
41.2676	0.041267606	1650.704225	330140.8451	65.98
43.3803	0.043380282	1735.211268	347042.2535	69.35
44.5070	0.044507042	1780.28169	356056.338	71.15
23.2394	0.023239437	929.5774648	185915.493	37.17
24.0845	0.024084507	963.3802817	192676.0563	38.53
25.3521	0.025352113	1014.084507	202816.9014	40.55
91.6901	0.091690141	3667.605634	733521.1268	146.44
90.9859	0.090985915	3639.43662	727887.3239	145.32
92.1127	0.092112676	3684.507042	736901.4085	147.12



Gambar 8. grafik analisis total fenol

	rata - rata	STDEV
Methanol	68.82757	2.629
etil asetat	38.75204	1.701
Nhexsan	146.2907	0.909

- **Uji Normalitas SPSS**

	larutan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ulangan	methanol	.235	3	.	.978	3	.714
	Nheksan	.223	3	.	.985	3	.765
	etil asetat	.245	3	.	.970	3	.670

Berdasarkan nilai sig. pada masing – masing larutan diketahui bahwa didapat nilai > 0.05 sehingga dapat disimpulkan data berdistribusi normal.

- **Uji ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11601398.00	2	5800699.000	2629.113	.000
Within Groups	13238.000	6	2206.333		
Total	11614636.00	8			

Berdasarkan output Anova diatas didapat nilai sig. < 0.05 maka dapat disimpulkan ke tiga larutan berbeda secara nyata.

- **Uji homogenitas**

ulangan







Duncan^a







larutan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Nheksan	3	969.00		
etil asetat	3		1722.00	
methanol	3			3664.00
Sig.		1.000	1.000	1.000




Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.









Lampiran 4. Penapisan fitokimia parijoto

Skrining fitokimia	Gambar					
	Eksrak metanol		Ekstrak etil asetat		Ekstrak n-heksana	
Uji Flavonoid						
	ekstrak metanol + NaOH	Penambahan H ₂ SO ₄ □ warna kuning memudar (+)	ekstrak etil asetat + NaOH	Penambahan H ₂ SO ₄ □ warna kuning memudar (+)	ekstrak n-heksana + NaOH	Penambahan H ₂ SO ₄ □ warna kuning tidak memudar (-)

Uji Saponin			
	Terbentuk busa yang stabil (+)	Terbentuk busa yang stabil (+)	Tidak terbentuk busa yang stabil (-)
Uji Tanin			
	Terbentuk warna hijau kehitaman (+)	Terbentuk warna hijau kehitaman (+)	Tidak terbentuk warna kehitaman (-)

Uji Polifenol			
	Tidak terbentuk warna (-)	Tidak terbentuk warna (-)	Tidak terbentuk warnabiru (+)

Lampiran 5. Dokumentasi kegiatan

			
<p>Proses fraksinasi ekstrak buah parijoto</p>	<p>Inkubasi sampel uji anti oksidan</p>	<p>Sampel fraksinasi</p>	<p>Sampel uji anti oksidan</p>
			
<p>Sampel basah</p>	<p>Simplisia buah parijoto</p>	<p>Ekstrak kasar buah parijoto</p>	<p>Penyaringan ekstrak kasar</p>

