

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT,
DAN FRAKSI AIR EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA
KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm.) TERHADAP DPPH**



Oleh :

Ima Dwiatun

20144167A

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2018

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT,
DAN FRAKSI AIR EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA
KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm.) TERHADAP DPPH**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi S1-Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

Ima Dwiatun

20144167A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2018

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT,
DAN FRAKSI AIR EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA
KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm.) TERHADAP DPPH**

Yang disusun oleh peserta program :

**Nama : Ima Dwiatun
NIM : 20144167A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 15 Agustus 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

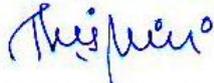
Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,



Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,



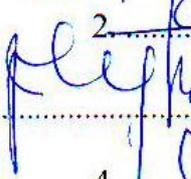
Dra. Kusrini, M.Si., Apt.

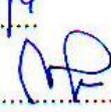
Penguji :

1. Dr. Jason Merari P., MM., M.Si., Apt.
2. Jamilah Sarimanah, M.Si., Apt.
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.
4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

1. 

2. 

3. 

4. 

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan karya ini untuk :

Allah SWT. Sujud Syukur atas kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu. Atas karunia serta kemudahan yang engkau berikan kepada hamba.

Sholawat serta salam selalu terlimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

BAPAK DAN IBU

Kupersembahkan skripsi ini untuk Bapak dan Ibu tercinta yang selama ini selalu memberi do'a, nasehat dan kasih sayang.

KAKAK

Kupersembahkan skripsi ini untuk kakak ku yang selalu perhatian, memberikan semangat.

“Allah mengangkat derajat orang-orang yang beriman diantara kalian serta orang-orang yang menuntut ilmu beberapa derajat”

(Q.S. al-Mujadaah: 11)

“Siapa yang menghendaki kebahagiaan hidup dunia, harus dengan ilmu. Dan siapa yang menghendaki kebahagiaan akhirat harus dengan ilmu dan barang siapa yang menghendaki kebahagiaan keduanya (dunia&akhirat) juga harus dengan ilmu”

(H.R. Tabrani)

“Barangsiapa yang menapaki suatu jalan dalam rangka mencari ilmu maka Allah akan mudahkan baginya jalan ke Surga”

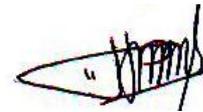
(H.R. Ibnu Majah & Abu Dawud)

PERNYATAAN

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

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Agustus 2018

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ima Dwiaturun', written over a faint rectangular box.

Ima Dwiaturun

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **” UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm.) TERHADAP DPPH ”** ini dengan baik.

Adapun skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat umum dan bagi ilmu pengetahuan bidang obat tradisional. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA. selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kusrini, M.Si., Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat, ilmu, dan koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh

dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, Agustus 2018

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ima Dwiatun', written over a horizontal line.

Ima Dwiatun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Mangga Kasturi	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Deskripsi tanaman	5
3. Waktu panen	6
4. Khasiat tanaman	7
5. Kandungan kimia	8
B. Simplisia	9
1. Pengertian simplisia	9
2. Pencucian dan pengeringan simplisia	9
C. Metode Penyarian	10
1. Ekstraksi	10

2. Maserasi	10
3. Fraksinasi	10
4. Cairan penyari untuk ekstraksi	11
D. Radikal Bebas	12
E. Antioksidan	12
1. Pengertian antioksidan	12
2. Macam-macam antioksidan	13
3. Manfaat antioksidan	14
4. Metode uji aktivitas antioksidan	14
F. DPPH	16
G. Spektroskopi Ultraviolet dan Visible	17
H. Rutin	18
I. Landasan Teori	19
J. Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Populasi dan Sampel	22
1. Populasi	22
2. Sampel	22
B. Variabel Penelitian	22
1. Identifikasi variabel utama	22
2. Klasifikasi variabel utama	22
3. Definisi operasional variabel utama	23
C. Alat dan Bahan	24
1. Alat	24
2. Bahan	24
D. Jalannya Penelitian	24
1. Determinasi tanaman	24
2. Pengeringan daun mangga kasturi	24
3. Penyiapan serbuk	25
4. Penetapan kadar air	25
5. Penyiapan ekstrak	25

6. Fraksinasi dari ekstrak	26
7. Identifikasi kandungan senyawa kimia	27
E. Uji Aktivitas Antioksidan	28
1. Persiapan larutan	28
2. Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH	29
3. Penetapan <i>operating time</i>	29
4. Uji aktivitas antioksidan	29
F. Analisis Data	30
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	32
A. Hasil Penelitian	32
1. Hasil determinasi tanaman	32
2. Pembuatan serbuk daun mangga kasturi	32
3. Hasil penentuan kadar air serbuk daun mangga kasturi	33
4. Hasil pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi	34
5. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun mangga kasturi	34
6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi daun mangga kasturi	35
7. Hasil uji aktivitas antioksidan	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
A. Kesimpulan	43
B. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman Mangga Kasturi	5
2. Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan	15
3. Reaksi antara radikal bebas DPPH dengan senyawa peredam radikal bebas	16
4. Struktur kimia rutin	18
5. Skema pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi (<i>Mangifera casturi</i> kosterm)	26
6. Skema pembuatan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air ekstrak metanol daun mangga kasturi (<i>Mangifera casturi</i> kosterm)	27
7. Skema uji aktivitas antioksidan	30
8. Skema jalannya penelitian	31
9. Kurva serapan DPPH	37
10. Struktur DPPH radikal bebas dan radikal bebas yang telah berinteraksi dengan antioksidan	38
11. Aktivitas antioksidan berdasar nilai IC ₅₀	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Mekanisme antioksidan	14
2. Absorbansi sinar UV pada λ maks beberapa pelarut	17
3. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH	21
4. Persentase bobot simplisia	32
5. Persentase bobot serbuk	33
6. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi	33
7. Persentase rendemen ekstrak daun mangga kasturi	34
8. Hasil total fraksi ekstrak daun mangga kasturi	35
9. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun mangga kasturi	35
10. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air	36
11. Nilai absorbansi larutan uji.....	39
12. Nilai IC ₅₀	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi tumbuhan	50
2. Bahan	51
3. Alat	52
4. Perhitungan rendemen simplisia	53
5. Perhitungan rendemen serbuk	54
6. Perhitungan kadar air serbuk daun mangga kasturi	55
7. Perhitungan rendemen ekstrak daun mangga kasturi	56
8. Perhitungan rendemen pembuatan fraksi	57
9. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak	58
10. Hasil identifikasi kandungan senyawa fraksi	60
11. Perhitungan pembuatan larutan DPPH	62
12. Perhitungan data konsentrasi larutan rutin	63
13. Perhitungan data konsentrasi larutan uji	64
14. <i>Operating time</i> rutin	65
15. Perhitungan IC ₅₀ rutin	66
16. Perhitungan IC ₅₀ ekstrak	68
17. Perhitungan IC ₅₀ fraksi <i>n</i> -heksan	70
18. Perhitungan IC ₅₀ fraksi eti asetat	72
19. Perhitungan IC ₅₀ fraksi air	74
20. Uji statistik Oneway ANOVA	76

INTISARI

DWIATUN, IMA., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm.) TERHADAP DPPH, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menstabilkan radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat berinteraksi dengan molekul sel tubuh. Daun mangga kasturi mengandung flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana, etil asetat, air serta ekstrak metanol daun mangga kasturi, dan untuk mengetahui aktivitas antioksidan paling optimal diantara fraksi *n*-heksana, etil asetat, air serta ekstrak metanol daun mangga kasturi.

Daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan metanol dilanjutkan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dilakukan terhadap fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, serta ekstrak metanol daun mangga kasturi.

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ pada fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, dan ekstrak metanol daun mangga kasturi berturut-turut yaitu: 219,42 ppm, 68,63 ppm, 132,57 ppm, dan 94,48 ppm. Aktivitas antioksidan paling besar yaitu fraksi etil asetat.

Kata kunci : daun mangga kasturi, antioksidan, ekstrak metanol, DPPH

ABSTRACT

DWIATUN, IMA., 2018, TEST OF ANTIOXIDANT ACTIVITY *n*-HEXANE FRACTION, ETHYL ASETATE, AND WATER FRACTION METHANOL EXTRACT OF KASTURI MANGO (*Mangifera casturi* Kosterm.) LEAF ON THE RADICAL DPPH, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Antioxidants are compounds that can stabilize free radicals in the body. Free radicals are highly reactive molecules because they have unpaired electrons so they can interact with body cell molecules. Kasturi mango leaves contain flavonoids, saponins, terpenoids, and tannins which can be used as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of *n*-hexane, ethyl acetate, water and methanol extracts of kasturi mango leaves, and to determine the greatest antioxidant activity between *n*-hexane, ethyl acetate, water and methanol extract of kasturi mango leaves.

Kasturi mango leaf (*Mangifera casturi* Kosterm.) was extracted using maceration method with methanol followed by fractionation using *n*-hexane and ethyl acetate solvents. Test of antioxidant activity to DPPH radical was done to *n*-hexane, ethyl acetate, air, and methanol extracts of kasturi mango leaf.

The test results of antioxidant activity which expressed by IC₅₀ value to the *n*-hexane, ethyl acetate, water fraction, and methanol extract of kasturi mango leaf were 219,42 ppm, 68,63 ppm, 132,57 ppm, and 94,48 ppm; respectively. The greatest antioxidant activity was ethyl acetate fraction.

Keywords: Kasturi mango leaf, antioxidant, methanol extract, DPPH

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan obat tradisional biasanya berdasarkan pengalaman nenek moyang. Pemakaian obat tradisional masih berlangsung sampai sekarang bahkan mengalami kepopuleran kembali dengan asumsi bahwa obat tradisional tidak memiliki efek samping yang berbahaya dibandingkan dengan obat-obat kimiawi. Faktor pendorong pemilihan obat tradisional adalah mudah didapat dan harga yang relatif murah sehingga obat tradisional digunakan sebagai alternatif dalam pemeliharaan kesehatan ataupun penyembuhan penyakit (Hernani dan Rahardjo 2005).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kesehatan manusia dalam pengobatan adalah keseimbangan antara kandungan radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Kurangnya asupan antioksidan yang cukup dari makanan yang dikonsumsi oleh sebagian besar masyarakat saat ini merupakan penyebab ketidakseimbangan tersebut. Ketidakseimbangan ini menjadi penyebab radikal bebas dominan di dalam tubuh, sehingga timbul berbagai macam penyakit seperti jantung koroner, kanker, diabetes, hati, dan penuaan dini (Winarsi 2007).

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat berinteraksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut. Terbentuknya radikal bebas dalam tubuh akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan reaksi radikal bebas baru yang akhirnya bertambah banyak, selanjutnya akan menyerang sel-sel tubuh kita sehingga terjadilah berbagai penyakit (Khomsan 2009). Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas bermacam-macam, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker (Winarsi 2007).

Solusi dari masalah yang ditimbulkan radikal bebas adalah dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan mempunyai peran yang penting dalam membantu pencegahan kerusakan sel-sel akibat adanya radikal bebas tersebut.

Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Hernani dan Rahardjo 2005).

Berbagai tanaman tradisional di sekitar kita dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan untuk meredam radikal bebas (Hernani dan Rahardjo 2005). Salah satu tanaman yang dikenal masyarakat adalah tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). Bagian daun mangga kasturi mengandung senyawa tanin, flavonoid, triterpenoid (Tanaya dkk 2015). Senyawa flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang dapat berperan sebagai antioksidan. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti, karena flavonoid memiliki kemampuan untuk mereduksi radikal bebas dengan cara mendonasikan atom hidrogen kepada radikal bebas (Robinson 1995).

Berdasarkan penelusuran literatur, pada uji fitokimia fraksi etil asetat daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) mengandung tanin, flavonoid, triterpenoid (Tanaya dkk 2015). Flavonoid adalah suatu kelompok fenol terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid telah menunjukkan perannya sebagai antioksidan, antimutagenik, dan aktivitas vasodilator (Windono *et al* 2001). Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk senyawa nonradikal bebas yang tidak reaktif dan relatif stabil (Djamil & Anelia 2009).

Pada penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 34,558 ppm (Bakti *et al* 2017). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga kasturi dapat bersifat imunostimulator terhadap aktivitas dan kapasitas sel makrofag pada proses fagositosis (Rahim dkk 2017).

Penelitian yang dilakukan Rahmiyani & Nurdianti (2016) menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga gedong (*Mangifera indica* L.) memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH. Senyawa kimia yang terkandung dalam daun mangga gedong yaitu flavonoid, fenol, tanin, terpenoid dan kuinon. Berdasarkan kemotaksonomi apabila dua tanaman masih dalam satu genus yang

sama kemungkinan kandungan yang ada di dalam tanaman tersebut juga sama. Berdasarkan persamaan kandungan dari daun *Mangifera indica L.* kemungkinan daun mangga kasturi juga memiliki potensi yang sama pula yaitu sebagai antioksidan, penelitian tentang fraksi-fraksi ekstrak metanolik daun mangga kasturi sebagai antioksidan terhadap radikal DPPH belum pernah diteliti sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian. Penelitian ini diharapkan mampu menemukan alternatif bahan antioksidan yang memiliki kemampuan menghambat radikal bebas, sehingga dapat dikembangkan penggunaannya terhadap penyakit-penyakit yang berkaitan dengan radikal bebas, apalagi penelitian terhadap daun mangga kasturi masih sangat terbatas, hal ini sangat disayangkan karena manfaatnya yang begitu besar di masyarakat.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fakhruddin *et al* ekstrak metanol dibuat dengan maserasi serbuk kering buah dan kulit *M. casturi* menggunakan metanol sebanyak 3x selama 24 jam. Fraksinasi dan isolasi terhadap ekstrak metanol tersebut dilakukan untuk memperoleh kelompok senyawa tertentu. Kelompok senyawa flavonoid C-glikosida dapat diperoleh menggunakan pelarut n-butanol. Pada penelitian yang dilakukan oleh Lukmandaru *dkk.* ekstraksi lanjutan setelah memperoleh ekstrak metanol kayu *Mangifera indica L.*, *Mangifera foetida L.*, dan *Mangifera odorata Griff* melalui fraksinasi.

Pengujian antioksidan ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH sebagai senyawa radikal bebas stabil secara spektrofotometri. Prinsip metode uji antioksidan DPPH didasarkan pada reaksi penangkapan atom hidrogen oleh DPPH (reduksi DPPH) dari senyawa antioksidan. DPPH selanjutnya akan tereduksi menjadi senyawa diphenyl picrylhydrazine (DPPH-H). Reduksi DPPH menjadi DPPH-H menyebabkan perubahan warna pada reagen DPPH dari ungu menjadi kuning. Pengukuran serapan DPPH berkisar pada panjang gelombang 515-520 nm (Kurniawan 2011).

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah IC_{50} , yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Pratiwi 2009).

B. Perumusan Masalah

1. Apakah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} ?
2. Manakah diantara fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.).
2. Mengetahui aktivitas antioksidan yang tertinggi dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} .

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat dan industri obat tradisional tentang potensi daun mangga kasturi sebagai antioksidan, sehingga dapat dikembangkan penggunaannya terhadap penyakit-penyakit yang berkaitan dengan radikal bebas.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Mangga Kasturi

1. Sistematika tanaman

Sistematika secara lengkap tanaman mangga kasturi sebagai berikut,

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnolophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Genus	: <i>Mangifera</i>
Famili	: Myrtaceae
Spesies	: <i>Mangifera casturi</i> Kosterm (Andriyani 2013)



Gambar 1. Tanaman mangga kasturi (Ayala-silva *et al* 2013)

2. Deskripsi tanaman

Pohon mangga kasturi dapat berumur puluhan tahun, tumbuh dipekarangan atau di hutan. Kulit kayu berwarna putih keabu-abuan sampai coklat terang, kadang terdapat retakan atau celah ± 1 cm berupa kulit kayu mati

dan mirip dengan *Mangifera indica*. Tanaman bisa mencapai tinggi 25-50 m atau bahkan lebih, dengan diameter batang $\pm 40-115$ cm. Kulit batang apabila dilukai akan mengeluarkan getah yang mula-mula bening, kemudian berwarna kemerahan dan menghitam dalam beberapa jam. Getah ini mengandung terpenin dan berbau tajam, dapat melukai kulit atau menimbulkan iritasi terutama bagi kulit yang sensitif (Baswarsiati dan Yuniarti 2007).

Daun tunggal, gundul, tersusun dalam spiral atau spiral rapat, bertangkai panjang, berbentuk lanset memanjang dengan ujung runcing dan pada kedua belah sisi tulang daun tengah terdapat 12-25 tulang daun samping. Tanpa daun penumpu. Daun muda menggantung lemas dan berwarna ungu tua (Abdelnaser dan Shinkichi 2010).

Bunga mangga kasturi merupakan bunga majemuk berkelamin ganda dengan bentuk bunga berkarang dalam malai dengan banyak bunga yang berukuran kecil, aktinomorf, dan sering kali berambut rapat. Panjang tangkai bunga ± 28 cm dengan anak tangkai sangat pendek, yaitu 2-4 mm seolah-olah duduk pada cabang-cabang malai. Daun kelopak bulat telur memanjang dengan panjang 2-3 mm. Daun mahkota bulat telur memanjang dan bunga berbau harum. Benang sari sama panjang dengan mahkota, staminodia sangat pendek dan seperti benang sari yang tertancap pada tonjolan dasar bunga (Rashedy 2014).

Buah mangga kasturi berbentuk bulat sampai elips dengan berat 60-84 g, panjang 4,5-5,5 cm, dan lebar 3,5-3,9 cm, daging buah kuning atau oranye dan berserabut, tekstur daging buah agak kasar, rasa buah manis sedikit asam, dan beraroma khas. Biji tergolong biji batu dengan dinding yang tebal. Biji tunggal, terkadang dengan banyak embrio, terselubung cangkup endokarp yang mengeras dan seperti kulit. Mangga ini berbuah pada awal musim penghujan atau sekitar bulan Januari (Shaban 2009).

3. Waktu panen

Pada saat musim berbuah (November-Januari), tanaman ini berbuah sangat lebat. Kulit buah saat masih muda berwarna hijau, setelah tua berubah menjadi coklat kehitaman, permukaan kulitnya licin. Bentuk buah lonjong dengan nisbah panjang/lebar 1,25-1,53. Kulit buah sekitar 0,24 mm. Daging buah berkadar air

tinggi (87,2%), namun beberapa komponen kimia yang lainnya rendah, seperti protein (0,3%), lemak (0,04%), pati (1,4%), total gula (2%), dan kalori (9,6 kal/100g), kadar asam (4,7%) dan karbohidratnya (12%) relatif tinggi (Antarlina 2009).

Waktu panen daun dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai dengan saat-saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak. Pucuk daun dianjurkan diambil pada saat warna pucuk daun berubah menjadi daun tua (Gunawan dan Mulyani 2004).

4. Khasiat tanaman mangga kasturi

Mangga kasturi termasuk dalam genus *Mangifera*. Genus *Mangifera* telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional antara lain untuk mengobati diare, disentri, reumatik, diabetes, tekanan darah tinggi dan berbagai penyakit kulit (Parves 2016). Menurut penelitian Rosyidah *et al* (2010) kulit batang tumbuhan kasturi berkhasiat sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* yang menyebabkan diare dan *S. Aureus* yang menyebabkan penyakit kulit dan menurut Mustikasari dkk (2008) akar dan batang dari tumbuhan kasturi mempunyai potensi sebagai obat antidiabetes. Menurut penelitian Fakhrudin *et al* (2013) ekstrak metanol dari buah mangga kasturi memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan daunnya untuk mengobati diabetes dan buahnya sebagai antioksidan.

Menurut Tanaya *et al* (2015) fraksi etil asetat daun mangga kasturi mengandung tanin, flavonoid dan triterpenoid. Penelitian yang dilakukan Syah dkk (2015) terhadap bagian daun *Mangifera indica* yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, kuinon, polifenol, steroid, dan triterpenoid. Flavonoid merupakan komponen fenolik yang baik terhadap radikal OH dan superoksida menggunakan lipid membrane terhadap oksidasi yang rusak. Senyawa ini juga bertindak sebagai pereduksi yang dapat menghambat reaksi oksidasi secara enzim maupun koenzim (Robinson 1995). Rohman & Riyanto (2005); Redha (2010) melaporkan bahwa senyawa polifenol seperti flavonoid dan galat mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (radical scavenging) dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang.

5. Kandungan kimia

Berdasarkan penelitian Putri *et al* (2015) pada uji fitokimia dari fraksi n-heksan bagian daun mangga kasturi mengandung tanin, triterpenoid. Menurut penelitian Tanaya *et al* (2015) pada uji fitokimia fraksi etil asetat daun mangga kasturi mengandung tanin, flavonoid, triterpenoid.

5.1 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang mempunyai struktur dasar C₆-C₃-C₆. Artinya senyawa karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon C₃ (Robinson 1995). Flavonoid termasuk salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid mempunyai peran sebagai antioksidan, antimutagenik, dan vasodilator (Windono *et al* 2001).

5.2 Tanin. Tanin merupakan suatu zat kompleks yang terdapat campuran polifenol yang sukar dipisahkan, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit, pertahanan bagi tumbuhan, membantu mengusir hewan pemangsa tumbuhan, antioksidan, menghambat pertumbuhan tunas dan dapat mendenaturasi protein (Robinson 1995).

5.3 Saponin. Saponin merupakan kelompok glikosida alami yang membentuk larutan koloid dengan air yang akan menghasilkan busa jika dikocok. Pada tanaman, saponin banyak ditemukan pada akar dan daun. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Supriyatna *et al* 2014).

5.4 Triterpenoid. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-₃₀ asiklik yaitu skualena yang berupa senyawa tidak berwarna, bersifat optis aktif, berbentuk kristal, dan bertitik leleh tinggi (Harborne 1987). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, dan menyebabkan membran atau dinding sel tidak terbentuk sempurna (Ajizah 2004).

B. Simplisia

1. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan yang tercemar pestisida. Pencucian dilakukan dengan air bersih (Gunawan & Mulyani 2004).

Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan panar sinar matahari langsung, pengeringan alamiah lainnya dengan diangin-anginkan dan tidak dipanaskan di bawah matahari langsung. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembaban udara dan kelembaban bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004). Kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% karena dengan kadar lembab kurang dari 10% sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih aktif (Katno *et al* 2008).

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan lain-lain. Senyawa aktif yang diketahui terkandung dalam simplisia akan mempermudah pilihan pelarut dengan cara ekstraksi yang tepat (Depkes 2000). Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental, atau cair, dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, soxletasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Cairan penyari yang dapat digunakan berupa air, eter atau campuran etanol dalam air (Anief 2003).

2. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Keuntungan maserasi mudah dilakukan, konsentrasi bahan ekstrak terjamin keseimbangannya, maserasi secara teoritis tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut (Voigt 1995). Kerugiannya adalah pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes 2000).

Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, dimasukkan dalam bejana lalu dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk, sari kemudian diencerkan dan ampas diperas. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (Depkes 2000).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan polaritas. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Serbuk

simplisia mula-mula disari berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut mulai dengan yang nonpolar, kemudian disari dengan pelarut yang semi polar dan terakhir dengan yang lebih spesifik terhadap polaritas pelarut yang digunakan (Harborne 1987).

4. Cairan penyari untuk ekstraksi

Pemilihan pelarut yang tepat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar 2010). Metanol merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana dari turunan alkohol. Metanol berbentuk cair yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan berbau khas. Metanol digunakan sebagai bahan pelarut, bahan bakar dan bahan aktif bagi industri metanol. Metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid (Voigt 1995).

4.1 *n*-heksan. *n*-heksan merupakan pelarut nonpolar berupa cairan yang jernih, tidak berwarna, mempunyai sifat larut dalam 5 bagian air. *n*-heksan dapat bercampur dengan etanol, mutlak dapat bercampur dengan benzene, kloroform, eter, dan sebagian besar senyawa minyak atsiri, lemak, asam lemak tinggi, golongan triterpenoid, steroid, uangnya mudah meledak bila berikatan dengan udara maka sebaiknya disimpan dalam tempat yang dingin (Robinson 1995).

4.2 Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (Wardhani & Sulistyani 2012). Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al* 2013).

4.3 Air. Air adalah pelarut universal, yang digunakan untuk ekstrak tanaman dengan produk aktivitas antimikroba. Ekstrak tumbuh-tumbuhan organik dari pelarut telah memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang

menguntungkan karena zat aktif ikut tersari sehingga zat lain yang diperlukan mengganggu proses penyarian (Tiwari *et al* 2011).

D. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan sangat reaktif, sehingga untuk menjadi stabil radikal bebas cenderung akan mengambil elektron dari molekul lain yang menimbulkan ketidaknormalan molekul lain dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak jaringan (Dai & Triharman 2010).

Pada dasarnya radikal bebas dapat terbentuk melalui dua cara, yaitu secara endogen (sebagai respon normal proses biokimia intrasel maupun ekstrasel) dan eksogen (misalnya dari polusi, makanan, dan injeksi ataupun absorpsi melalui kulit) (Winarsi 2007). Senyawa ini dapat memicu timbulnya penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, koroner, stroke, diabetes, dan kanker (Serlahwaty dkk. 2011).

Sebagian besar penyakit diawali dengan reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh, hal ini akan memicu terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur dan fungsi sel. Radikal bebas dapat menyerang beberapa komponen tubuh seperti asam nukleat, protein, lipid, bahkan DNA. Senyawa ini dapat dinetralkan oleh antioksidan (Serlahwaty *et al* 2011). Radikal DPPH mampu ditangkap oleh antioksidan dan akan membentuk DPPH-H yang tereduksi yang berwarna kuning. Perubahan warna ini akan sejalan dengan penurunan serapannya pada panjang gelombang maksimum sehingga dapat diketahui aktivitas antioksidan penangkap radikal bebasnya (Suganda 2013).

E. Antioksidan

1. Pengertian antioksidan

Antioksidan adalah senyawa dalam kadar rendah yang mampu menghambat proses oksidasi. Substansi ini digunakan dalam melindungi tubuh dari radikal bebas dengan mekanisme menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga reaksi berantai akan

terhambat (Dai & Triharman 2010). Antioksidan dibagi menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami yaitu antioksidan yang diperoleh dari bahan alami seperti beta karoten, vitamin C dan vitamin E, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, dan katekin (Winarsi 2007). Sumber antioksidan alami terkandung dalam sayur-sayuran dan buah-buahan, sedangkan antioksidan sintetis yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil reaksi kimia seperti BHA (*Butil Hidroksi Anisol*), BHT (*Butil Hidroksi Toluena*), dan TBHQ (*Tert-Butil Hidroksi Quinon*). Jenis antioksidan lain yaitu antioksidan yang berasal dari tubuh yang berupa enzim, seperti dismutase, persidase, katalase (Winarsi 2007).

2. Macam-macam antioksidan

Menurut mekanisme kerjanya, antioksidan dibagi menjadi 3 golongan, yaitu: antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

2.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer adalah antioksidan yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas karena antioksidan ini mampu mengubah radikal bebas menjadi molekul yang dampak negatifnya lebih kecil sebelum molekul itu bereaksi (Winarsi 2007).

2.2 Antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder adalah antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas sehingga tidak terjadi reaksi berantai dan tidak terjadi kerusakan, contohnya adalah vitamin C, vitamin E, beta karoten, flavonoid, isoflavon, antosianin, dan isokatekin. Senyawa ini dapat diperoleh dari buah-buahan (Winarsi 2007).

2.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier adalah antioksidan yang berfungsi memperbaiki kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas, yang termasuk dalam antioksidan ini adalah enzim metionin sulfoksida reduktase (Winarsi 2007).

Tabel 1. Mekanisme antioksidan (Winarsi 2007)

Jenis antioksidan	Mekanisme kerja
Antioksidan primer	Mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus ikatan berantai.
Antioksidan sekunder	Memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas, atau dengan cara menangkap radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak dapat bereaksi dengan komponen seluler.
Antioksidan tersier	Memperbaiki biomolekul yang rusak akibat radikal bebas.

3. Manfaat antioksidan

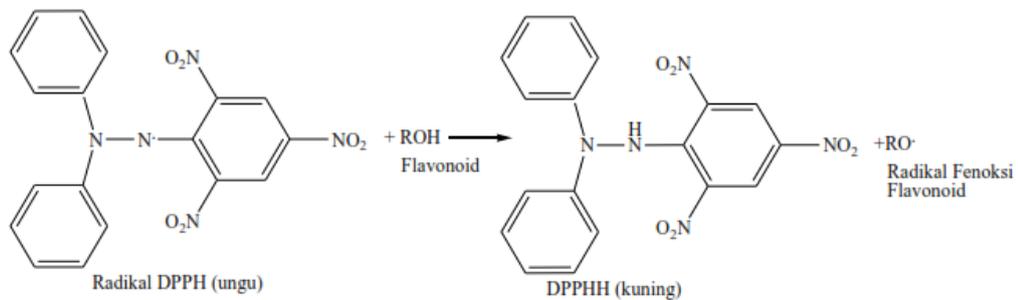
Antioksidan mempunyai fungsi utama yaitu digunakan untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi lemak dan minyak. Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul bebas sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Winarsi 2007). Antioksidan dalam bidang industri makanan digunakan untuk meminimalkan terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang lama pemakaian dalam industri makanan, serta meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan. Bidang kesehatan dan kecantikan, menggunakan antioksidan sebagai pencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain lain (Tahir dkk 2003).

4. Metode uji aktivitas antioksidan

4.1 Pengujian penangkap radikal bebas (*radical scavenging test*).

Metode DPPH menunjukkan penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa diikuti dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya (Pokorny dkk 2001). Radikal DPPH dapat dideteksi pada panjang gelombang 500-525 nm (Dehpour dkk 2009). Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan. Sehingga terjadi perubahan warna dari warna ungu menjadi warna kuning (Sunarni 2008). Radikal DPPH direndam oleh antioksidan melalui donasi hidrogen membentuk molekul DPPH tereduksi, intensitasnya dapat dianalisis dengan spektrofotometri. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin besar aktivitas antioksidan, range nilai IC_{50} untuk ekstrak yaitu <50 ppm.

Keuntungan dari metode DPPH adalah sederhana, cepat, dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal bebas beberapa senyawa. Metode ini juga terbukti akurat, praktis, dan membutuhkan sampel yang sedikit (Rastuti 2012).



Gambar 2. Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan (Prakash 2001)

4.2 Pengujian dengan asam tiobarbiturat (Thiobarbituric acid).

Pengujian ini berdasarkan adanya melonaldehid yang terbentuk dari asam lemak bebas tak jenuh dengan paling sedikit mempunyai 3 ikatan rangkap dua. Melonaldehid selanjutnya bereaksi dengan asam tiobarbiturat membentuk produk yang berwarna merah yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm (Pokorny dkk 2001)

4.3 Pengujian dengan sistem linoleat-tiosianat.

Asam linoleat merupakan asam lemak tidak jenuh dengan dua buah ikatan rangkap yang mudah mengalami oksidasi membentuk peroksida, selanjutnya mengoksidasi ion ferro menjadi ion ferri yang akan bereaksi dengan ammonium tiosianat membentuk kompleks ferri tiosianat yang berwarna merah. Identitas warna ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Identitas warna merah yang semakin tinggi menunjukkan semakin banyak peroksida yang terbentuk (Pokorny dkk 2001).

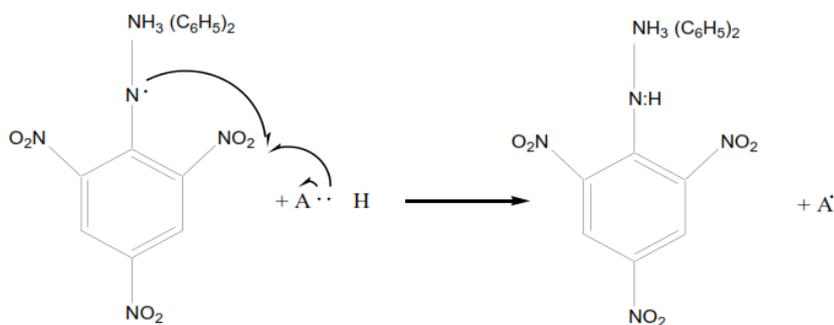
4.4 Pengujian dengan sistem β -karoten-linoleat.

Pengujian ini dilakukan dengan mengamati kecepatan terjadinya pemucatan warna β -karoten. Selain metode diatas ada juga metode yang menyatakan antivitas antioksidan yaitu pengujian bilangan peroksida, bilangan para anisidain, dan oktanoat (Pokorny dkk 2001).

F. Metode DPPH

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai *free radical scavengers* atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasi jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan (Prakash 2001).

Gugus kromofor dan auksokrom pada radikal bebas DPPH memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm sehingga menimbulkan warna ungu. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring penambahan antioksidan yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan. Hasil dekolorisasi oleh antioksidan setara dengan jumlah elektron yang tertangkap. Mekanisme penangkapan radikal ditunjukkan pada reaksi di bawah ini.



Gambar 3. Reaksi antara radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan senyawa peredam radikal bebas (noviana dkk 2007)

G. Spektroskopi Ultraviolet dan Visible

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan tampak tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra ultraviolet dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan tenaga elektronik. Serapan radiasi ultraviolet dan sinar tampak sering dikenal sebagai *spektrokopi elektronik*. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan (Sastrohamidjojo 2001). Serapan pada spektroskopi ultraviolet pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan pada spektroskopi tampak (visible) yaitu 400-800 nm. Persyaratan pelarut yang dipakai untuk melarutkan sampel antara lain : 1. Harus melarutkan sampel dengan sempurna 2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi dan tidak berwarna 3. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa 4. Kemurniannya harus tinggi.

Tabel 2. Absorbansi sinar UV pada λ_{maks} beberapa pelarut (Suhartati 2017)

Pelarut	λ_{maks} , nm
Asetonitril	190
Kloroform	240
Sikloheksana	195
Metanol	205
<i>n</i> -heksana	201
Air	190
Etanol 95%	205
Aseton	330

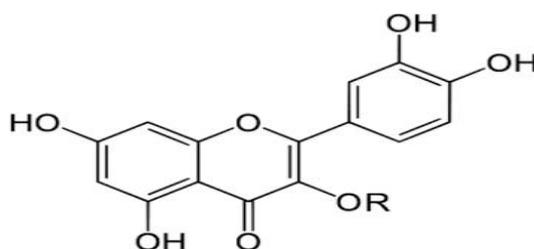
Spektrum ultraviolet adalah suatu gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan absorbansi (Sastrohamidjojo 2001). Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan konsentrasi sampel. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 (Suhartati 2017).

H. Rutin

Rutin merupakan bentuk glikosida dari flavonoid kuersetin dengan ikatan gula rutinosa dan banyak dijumpai di berbagai buah dan sayuran misalnya: apel, anggur merah, teh, dan bawang merah. Nama lain dari rutin adalah *rutoside* dan *quersetin-3-rutinoside* (Anonim 1997). Rumus formula dari rutin adalah $C_{27}H_{30}O_{16}$ dan memiliki bobot molekul 610,5. Rutin mempunyai aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antitrombotik sitoprotektif, dan vasoprotektif (Anonim 2007).

Rutin sering digunakan sebagai pembanding pada uji aktivitas antioksidan karena senyawa ini merupakan antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup efektif untuk meredam aksi destruktif radikal bebas dan memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,796 $\mu\text{g/ml}$ (Kuntho 2013), 5,606 $\mu\text{g/ml}$ (Ferianto 2013), 6,56 $\mu\text{g/ml}$ (Yuliasuti 2012), 8,05 $\mu\text{g/ml}$ (Tursiana 2013), 5,11 $\mu\text{g/ml}$ (Madalena 2010). Rutin bersifat polar dan akan mengalami hidrolisis bila direaksikan dengan asam kuat seperti HCl (Harborne 1987)

Rutin mampu mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel melalui beberapa mekanisme, antara lain menangkap radikal oksigen, perlindungan terhadap peroksidasi lipid dan mengkhelatkan ion logam. Rutin adalah glikosida flavonol yang terdiri dari aglikon kuersetin dan rutinosa (rhamnosa dan glukosa) sebagai gulanya (Susilowati 2010). Struktur kimia rutin dapat dilihat pada gambar 4.



R : H = kuersetin

Rhamnosa-O-Glukosa = Rutin

Gambar 4. Struktur kimia rutin (Anonim 2007)

I. Landasan Teori

Reaksi oksidasi berlebihan yang terjadi di dalam tubuh dapat memicu terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas merupakan suatu senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga tidak stabil. Untuk mencapai kestabilan, elektron tidak berpasangan akan mencari pasangan elektron di sekitarnya. Radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid, DNA, dan dapat memicu penyakit degeneratif (Uppu *et al* 2010). Senyawa antioksidan dapat meredam radikal bebas dan menghambat reaksi oksidatif, sehingga kerusakan sel akibat radikal bebas dapat dicegah (Ou *et al* 2002).

Berbagai tanaman tradisional disekitar kita dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan untuk meredam radikal bebas (Hernani dan Rahardjo 2005). Salah satu tanaman yang dikenal masyarakat adalah tanaman mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm). Menurut Putri dkk (2015) uji fitokimia fraksi *n*-heksan pada bagian daun mangga kasturi diketahui mengandung tanin, triterpenoid, dan menurut Tanaya *et al* (2015) pada uji fraksi etil asetat daun mangga kasturi mengandung tanin, flavonoid, triterpenoid. Penelitian lain tentang uji fitokimia pada akar dan batang kasturi positif mengandung saponin dan tanin (Mustikasari *et al* 2008). Penelitian yang dilakukan Syah *et al* (2015) terhadap bagian daun *Mangifera indica* menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, alkaloid, tanin, kuinon, polifenol, steroid, dan triterpenoid.

Flavonoid merupakan komponen fenolik yang baik terhadap radikal OH dan superoksida menggunakan lipid membrane terhadap oksidasi yang rusak. Senyawa ini juga bertindak sebagai pereduksi yang dapat menghambat reaksi oksidasi secara enzim maupun koenzim (Robinson 1995). Rohman & Riyanto (2005); Redha (2010) melaporkan bahwa senyawa-senyawa polifenol seperti flavonoid dan galat mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang. Penelitian yang dilakukan Rahmiyani & Nurdianti (2016) menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga gedong (*Mangifera indica*) memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH,

dimana ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi yaitu 98,70% dengan IC_{50} 5,02 ppm.

Ekstrak daun mangga kasturi diperoleh dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana (Voigt 1995). Metanol merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana dari turunan alkohol. Metanol berbentuk cair yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan berbau khas. Metanol digunakan sebagai bahan pelarut, bahan bakar dan bahan aktif bagi industri metanol. Metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid (Voigt 1995). Ekstrak metanol yang telah diperoleh, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air. *n*-heksan merupakan pelarut non polar digunakan untuk menyari senyawa seperti minyak atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol lemak, dan asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil, dan resin (Depkes 2005). Etil asetat bersifat semi polar sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Putri *et al* 2013). Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari seperti antosianin, tanin, saponin, glikosida, dan gula (Depkes 2005).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Visible. Serapan pada spektroskopi ultraviolet pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan pada spektroskopi tampak (visible) yaitu 400-800 nm.. Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan pula konsentrasi sampel. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier ($A=C$) apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 (Suhartati 2017).

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Radikal bebas DPPH merupakan radikal yang stabil dan mampu menangkap elektron, senyawa ini berwarna ungu yang larut dalam metanol dan etanol. Radikal DPPH ini mampu ditangkap oleh antioksidan dan akan membentuk DPPH-H yang tereduksi berwarna kuning. Perubahan warna ini akan sejalan dengan penurunan serapannya pada panjang gelombang maksimum sehingga dapat diketahui aktivitas antioksidan penangkap radikal bebasnya (Suganda 2013). Aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibition*

Concentration) adalah konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal bebas DPPH selama *operating time*. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin besar (Molineux 2004). Menurut Armala (2009), tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut nilai IC_{50} .

Tabel 3. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Armala 2009)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 $\mu\text{g/ml}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/ml}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g/ml}$
Lemah	> 150 $\mu\text{g/ml}$

Rutin merupakan bentuk glikosida dari flavonoid kuersetin dengan ikatan gula rutinosida (Anonim 1997). Rutin sering digunakan sebagai pembanding pada uji aktivitas antioksidan karena senyawa ini merupakan antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup efektif untuk meredam aksi destruktif radikal bebas dan memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,796 $\mu\text{g/ml}$ (Kuntho 2013), 5,606 $\mu\text{g/ml}$ (Ferinanto 2013), 6,56 $\mu\text{g/ml}$ (Yuliasuti 2012), 8,05 $\mu\text{g/ml}$ (Tursiana 2013), 5,11 $\mu\text{g/ml}$ (Madalena 2010).

J. Hipotesis

Menurut landasan teori, maka dapat disusun hipotesis:

1. Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) mempunyai aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} .
2. Fraksi etil asetat ekstrak metanol kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) mempunyai aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga kasturi yang diperoleh dari Kecamatan Banjar Baru Utara, Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga kasturi yang diambil bulan Januari 2018 secara acak dengan memilih daun pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, berwarna hijau, warna pucuk daun berubah menjadi daun tua, dari Kecamatan Banjar Baru Utara, Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama penelitian ini adalah ekstrak metanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dari ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun mangga kasturi terhadap senyawa radikal bebas DPPH.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel menurut fungsinya dalam penelitian dapat diklasifikasikan berdasar pola hubungan sebab akibat menjadi variabel bebas, variabel tergantung dan variabel kendali.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan yang dilakukan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai

konsentrasi dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun mangga kasturi.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah peneliti, kondisi laboratorium, kondisi fisik daun meliputi, ukuran daun, dan kematangan daun.

Variabel tergantung adalah titik pusat dari persoalan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam %*IC*.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun mangga kasturi adalah daun yang diperoleh dari daun mangga kasturi utuh, yang berwarna hijau, tidak terlalu tua juga tidak terlalu muda dari Kecamatan Banjar Baru Utara, Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

Kedua, serbuk daun mangga kasturi adalah daun yang dipetik kemudian dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran, setelah itu dikeringkan dengan panas cahaya matahari secara tidak langsung, kemudian dihaluskan dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak metanol daun mangga kasturi adalah hasil ekstraksi daun mangga kasturi yang diekstraksi dengan pelarut metanol menggunakan metode maserasi.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah hasil fraksinasi ekstrak metanol daun mangga kasturi dengan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut non polar.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi *n*-heksan dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi etil asetat daun mangga kasturi dengan menggunakan air sebagai pelarut polar sehingga didapatkan fraksi air.

Ketujuh, DPPH adalah radikal bebas sintetik yang stabil dalam larutan metanol.

Kedelapan, aktivitas antioksidan merupakan kemampuan dari fraksi n-heksana, etil asetat, dan air serta ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi*) dalam menangkap radikal bebas DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain bejana maserasi, gelas ukur, timbangan analitik, corong pisah, ayakan nomor 40, oven, batang pengaduk, seperangkat alat rotary evaporator, labu Erlenmeyer, kain flanel, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, Beaker glass, tabung reaksi, kertas saring, spektrofotometri UV-Vis.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga kasturi, metanol, n-heksana, etil asetat, aqua destilata, metanol p.a, rutin, DPPH (1,1 difenil-2-pikrihidrazil), air panas, magnesium, HCl, asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat, FeCl₃, asam asetat.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman mangga kasturi kemudian menetapkan kebenarannya sesuai dengan ciri-ciri morfologi tanaman secara makroskopis dan dengan acuan buku yang dibuktikan di Laboratorium Biologi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Tujuan dilakukannya determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian.

2. Pengeringan daun mangga kasturi

Daun mangga kasturi dicuci bersih dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, lalu ditiriskan dan dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C.

3. Penyiapan serbuk

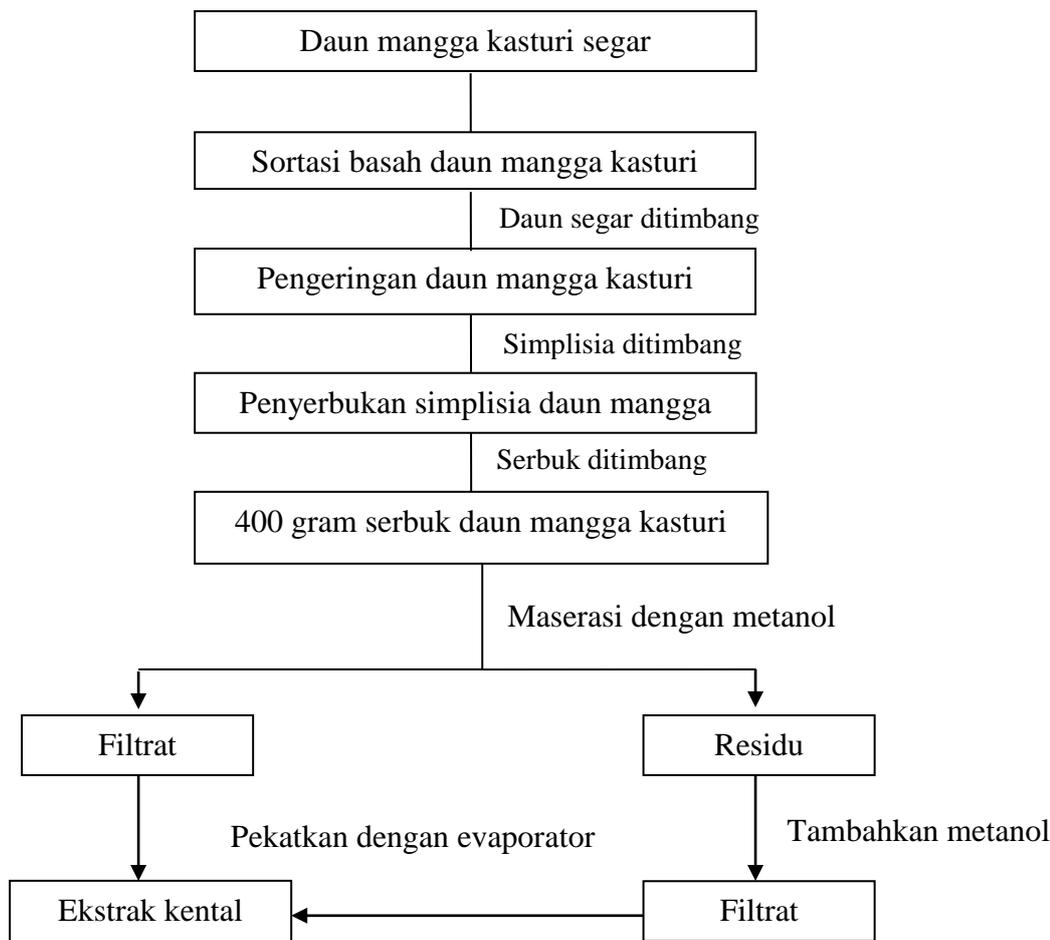
Daun mangga kasturi dicuci bersih dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, lalu ditiriskan dan dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dioven pada suhu 40°C. Daun mangga kasturi yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun mangga kasturi yang mempunyai derajat kehalusan yang relatif homogen.

4. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi

Penetapan kadar air serbuk daun ungu dilakukan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun ungu 20 gram dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xilen sampai serbuk terendam kemudian memasang alat *Sterling Bidwell*. Panaskan labu dengan hati-hati, dipanaskan dengan api kecil setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b (Depkes 2011).

5. Penyiapan ekstrak metanol daun mangga kasturi

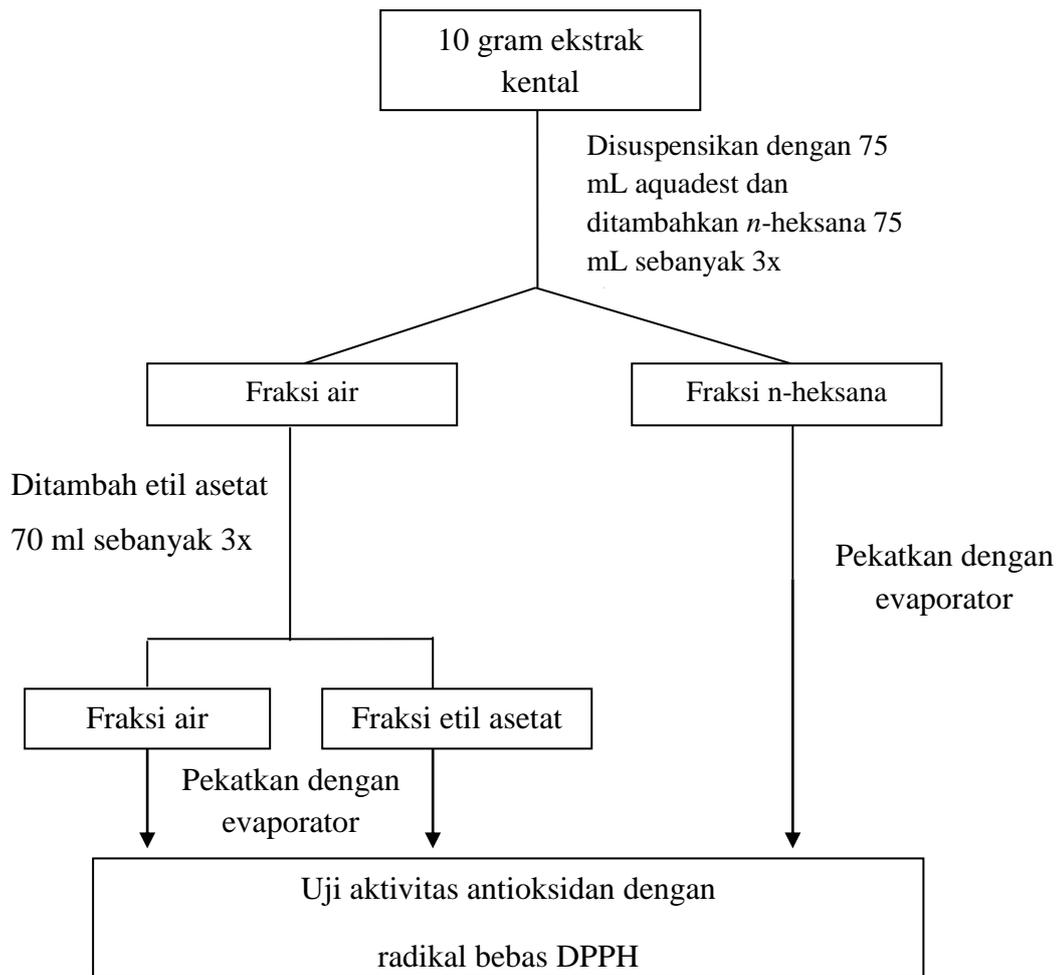
Sebanyak 400 gram serbuk daun mangga kasturi dimasukkan ke dalam bejana lalu ditambahkan metanol dengan perbandingan 1:7,5. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojog, setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan ampas menggunakan kain flanel. Ampas ditambah cairan penyari diaduk dan disaring hingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C sehingga menjadi ekstrak metanol daun mangga kasturi yang pekat (Depkes 1986).



Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* kosterm)

6. Fraksinasi dari ekstrak metanol daun mangga kasturi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun mangga kasturi disuspensikan dengan pelarut air 75 mL, kemudian dilakukan fraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksan masing-masing 75 mL. Proses fraksinasi dilakukan dengan corong pisah, fraksi *n*-heksan terletak di atas dan fraksi air terletak di bawah. Fraksi *n*-heksan yang didapat dipekatkan menggunakan evaporator dengan suhu di bawah 40°C. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksan dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat dengan volume 75 mL. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat yang terletak di atas dan fraksi air di bagian bawah. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu di bawah 40°C dan hasil fraksi air dipekatkan dengan menggunakan *water bath* pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ hasil disebut fraksi air.



Gambar 6. Skema pembuatan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) (Khamidah 2016)

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi daun mangga kasturi

Identifikasi senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk, ekstrak, dan fraksi teraktif daun mangga kasturi. Identifikasi kandungan senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

7.1 Flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan caranya sebanyak 1 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif dicampur dengan 5 ml metanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes HCl pada masing-masing filtrat. Terbentuknya warna merah pada lapisan metanol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne 1987).

7.2 Triterpenoid. Sebanyak 1 mg bahan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan 0,5 ml asam asetat anhidrida. Selanjutnya campuran ditetesi dengan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol dan jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, menunjukkan adanya terpenoid (Jones dan Kinghorn 2006).

7.3 Tanin. Serbuk simplisia, ekstrak, fraksi teraktif ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman (Robinson 1995).

7.4 Saponin. Identifikasi saponin, sebanyak 10 mL air panas dalam tabung reaksi didinginkan kemudian ditambahkan dengan 0,5 gram serbuk simplisia, ekstrak, dan fraksi teraktif lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 2005).

7.5 Alkaloid. Sebanyak 5 ml bahan uji dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2N. Tambahkan pereaksi alkaloid Dragendorff pada tabung reaksi. Sampel dinyatakan positif apabila terbentuk warna merah sampai jingga pada pereaksi Dragendorff (Depkes 1995).

E. Uji Aktivitas Antioksidan

Metode uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode uji Ramphorshad (2012) yang dimodifikasi.

1. Persiapan larutan

1.1 Larutan DPPH. Larutan pereaksi yang digunakan adalah DPPH 0,4 mM. Dibuat dengan cara menimbang 15,8 mg serbuk DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Lalu ditambah metanol p.a sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 0,4 mM yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol.

1.2 Larutan uji. Larutan uji yang berupa fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) masing-masing ditimbang 0,1 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambah metanol sampai larut sampai tanda batas hingga didapat konsentrasi 1000 ppm, Kemudian larutan ini dibuat dalam lima seri konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm.

1.3 Larutan stok rutin. Larutan ini dibuat dengan cara ditimbang 0,005 gram rutin kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambah metanol p.a sampai tanda batas hingga didapat konsentrasi 50 ppm. Selanjutnya larutan ini dibuat dalam lima seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

2. Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH

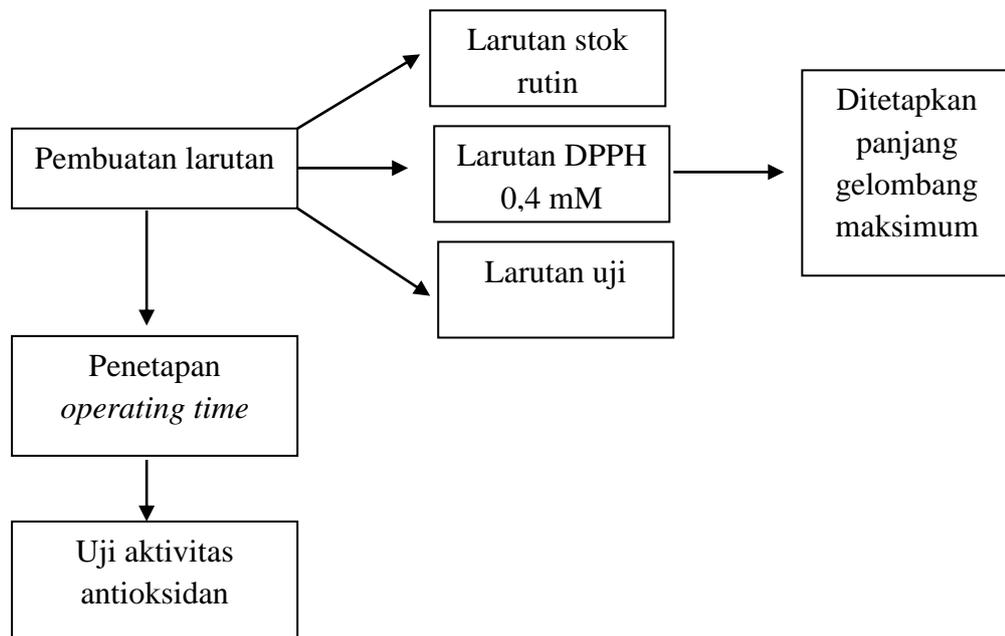
Penetapan panjang gelombang maksimum larutan pereaksi DPPH 0,4 mM dilakukan dengan cara memasukkan 1,0 mL larutan DPPH 0,4 mM ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambah dengan metanol p.a sampai tanda batas kemudian dikocok dan diamati serapannya pada rentang 450-550 nm (Molynoux 2008).

3. Penetapan *operating time*

Penetapan *operating time* dilakukan dengan cara diambil sebanyak 1,0 ml larutan stok DPPH 0,4 mM dan 1,0 ml larutan uji kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml ditambah metanol p.a sampai tanda batas. Penetapan *operating time* dilakukan pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 5 menit sampai didapat absorbansi yang stabil dan tidak terlihat adanya penurunan absorbansi. Dilakukan juga penetapan *operating time* DPPH pada rutin.

4. Uji aktivitas antioksidan

Larutan uji dan larutan rutin yang masing-masing dibuat lima seri konsentrasi. Rutin digunakan sebagai kontrol positif. Setiap konsentrasi larutan uji dan larutan rutin dipipet 1,0 mL kemudian ditambah larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1,0 mL dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL dan ditambah dengan metanol p.a sampai tanda batas kemudian dimasukkan dalam flakon dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan.



Gambar 7. Skema uji aktivitas antioksidan

F. Analisis Data

Aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksana, etil asetat, dan air serta ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) serta pembandingan rutin dinyatakan dengan harga IC_{50} . Absorbansi yang didapat secara spektrofotometri UV-Vis kemudian digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan. Harga IC_{50} didapat dari persamaan regresi linier antara persen peredaman radikal (% aktivitas) sebagai sumbu y dan berbagai konsentrasi uji sebagai sumbu x. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan, dan sebaliknya.

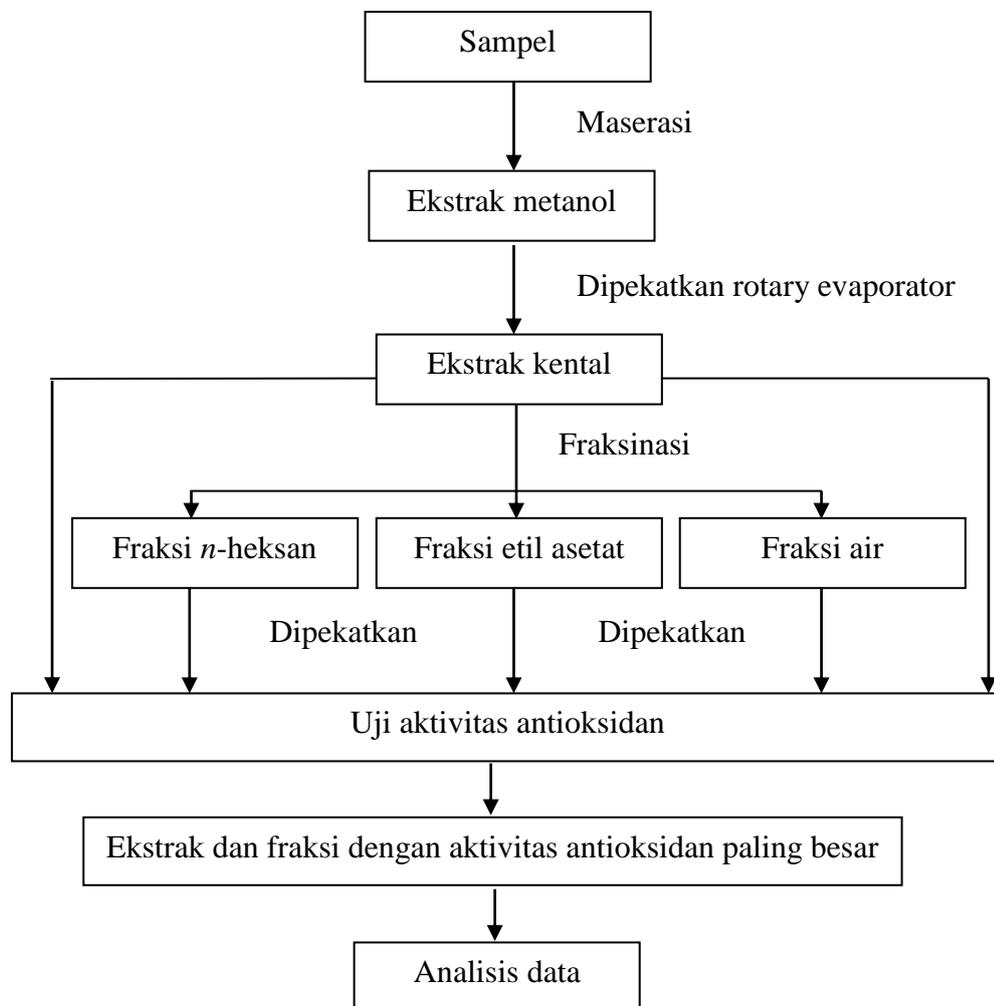
$$\text{Persen peredaman} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Keterangan

Absorbansi blanko = absorbansi DPPH

Absorbansi sampel = absorbansi fraksi n-heksan, etil asetat, dan air serta ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.).

Hasil perhitungan IC_{50} kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dilakukan analisis menggunakan uji ANOVA.



Gambar 8. Skema jalannya penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil determinasi tanaman

Determinasi pada tanaman mangga kasturi dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan diteliti demi menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan kemungkinan tercampurnya dengan tanaman yang lain.

Hasil dari identifikasi yang telah dilakukan diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun mangga kasturi. Hasil determinasi tanaman mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun mangga kasturi

2.1. Pengerinan daun mangga kasturi. Daun mangga kasturi diambil pada bulan Februari 2018. Daun mangga kasturi dicuci bersih dengan air mengalir, dipotong-potong, lalu dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung, setelah itu dimasukkan dalam oven pada suhu 45°C. Pengerinan dilakukan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam tanaman, sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan simplisia oleh mikroorganisme. Hasil rendemen pengerinan daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 4. Perhitungan rendemen pengerinan daun mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 4. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi

No	Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%) b/b
1	14	6,8	48,57

Berdasarkan tabel 3 dapat dijelaskan dari pengambilan daun pada bobot basah yaitu 14 kg setelah melalui tahap pengerinan didapatkan bobot kering dari daun mangga kasturi yaitu 6,8 kg yang selanjutnya dilakukan perhitungan persen rendemen bobot kering daun terhadap bobot basah yaitu 48,57%.

2.2. Penyerbukan daun mangga kasturi. Daun mangga kasturi yang sudah kering kemudian dibuat serbuk dengan tujuan memperkecil ukuran partikel daun sehingga mempermudah kontak dengan pelarut dan penyarian dapat berlangsung secara efektif. Hasil rendemen serbuk daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 5. Perhitungan rendemen serbuk daun mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 5. Persentase bobot serbuk terhadap bobot kering daun mangga kasturi

No	Bobot kering (kg)	Bobot serbuk (kg)	Rendemen (%) b/b
1	6,8	4,25	62,5

Berdasarkan tabel 5 dapat dijelaskan dari pengambilan daun pada bobot kering yaitu 6,8 kg setelah melalui tahap pengeringan didapatkan bobot serbuk daun mangga kasturi yaitu 4,25 kg yang selanjutnya dilakukan perhitungan persen rendemen bobot kering daun terhadap bobot basah yaitu 62,5%.

3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi dilakukan uji penetapan kadar air menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan menggunakan pelarut *xylene*. Uji penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam serbuk daun mangga kasturi. Persentase kadar air yang baik adalah kurang dari 10%. Kadar air yang tinggi dapat mempermudah pertumbuhan jamur begitu juga mikroorganisme lainnya sehingga dapat menyebabkan perubahan kimiawi yang dapat merusak dan menurunkan mutu dari serbuk. Hasil uji penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 6. Perhitungan uji penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 6. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi

No	Berat serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%) \pm SD
1	20	1,8	9
2	20	1,4	7
3	20	1,4	7
Rata-rata			7,67% \pm 1,15

Persentase rata-rata yang didapat dari uji penetapan kadar air pada serbuk daun mangga kasturi yaitu 7,67%, sehingga telah dinyatakan bahwa serbuk dari mangga kasturi memenuhi syarat yang telah ditentukan yaitu kurang dari 10% (Katno *et al* 2008).

4. Hasil pembuatan ekstrak metanol daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Maserasi merupakan metode yang digunakan dalam ekstraksi serbuk daun mangga kasturi. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil pembuatan ekstrak metanol dari daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 7. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 7. Persentase rendemen ekstrak daun mangga kasturi

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)b/b
400	63,35	15,84

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi adalah 63,35 gram, selanjutnya dilakukan perhitungan persen rendemen bobot ekstrak terhadap bobot serbuk yaitu 15,84%. Organoleptis pada ekstrak berwarna hijau tua, tekstur kental. Fraksinasi yang dilakukan terhadap ekstrak dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air untuk memperoleh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak daun mangga kasturi.

5. Hasil fraksinasi ekstrak metanol daun mangga kasturi

Hasil dari ekstraksi serbuk daun mangga kasturi selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan polaritas pelarutnya. *n*-heksan, etil asetat dan air adalah pelarut yang digunakan dalam fraksinasi pada penelitian ini. Pelarut *n*-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar dan air bersifat polar. Hasil dari fraksi *n*-heksan dan etil asetat pada corong pisah terletak diatas sedangkan fraksi air terletak dibawah, hal tersebut terjadi karena air mempunyai berat jenis lebih besar dibandingkan dengan *n*-heksan dan etil asetat. Hasil fraksinasi dari daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 8. Perhitungan rendemen fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 8. Hasil total fraksi ekstrak daun mangga kasturi

Bobot ekstrak (gram)	Fraksi	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)b/b
30	<i>n</i> -heksan	3,08	10,27
	Etil asetat	6,58	21,93
	Air	12,27	40,9

Tabel di atas menunjukkan hasil rendemen yang didapat pada setiap pelarut dimana fraksi air lebih besar dibanding etil asetat dan *n*-heksan, sedangkan fraksi etil asetat lebih besar dari pada *n*-heksan. Air merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam daun mangga kasturi lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat polar, sehingga fraksi air yang diperoleh lebih banyak dibandingkan fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat. Organoleptis fraksi *n*-heksan berwarna hijau tua, fraksi etil asetat berwarna hijau tua dan fraksi air berwarna coklat.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun mangga kasturi

Kandungan senyawa kimia ini diidentifikasi dengan tujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat di dalam daun mangga kasturi. Hasil identifikasi serbuk dan ekstrak dapat dilihat pada tabel 9. Foto hasil dari identifikasi dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun mangga kasturi

Kandungan senyawa kimia	Pereaksi	Hasil		Pustaka	Keterangan	
		S	E		S	E
Flavonoid	Wilstater sianidin	Cincin merah	Cincin merah	Merah pada lapisan metanol (Harborne 1987)	+	+
Triterpenoid	Lieberman-burchad	Cincin coklat	Cincin coklat	Cincin kecoklatan atau violet (Jones dan Kinghorn 2006)	+	+
Tanin	Uji Breamer's	Hitam	Hitam	Biru kehitaman (Robinson 1995)	+	+
Saponin	Uji Forth	Busa stabil	Busa stabil	Busa stabil (Depkes 2005)	+	+
Alkaloid	Uji Dragendorf	Coklat	Hijau gelap	Merah sampai jingga (Depkes 1995)	-	-

Keterangan: S = Serbuk E = Ekstrak

Berdasarkan tabel diatas hasil identifikasi kandungan kimia senyawa dari serbuk dan ekstrak metanol daun mangga kasturi menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, tanin, dan saponin. Sedangkan pada identifikasi senyawa alkaloid menunjukkan hasil negatif pada serbuk dan ekstrak daun mangga kasturi.

Tabel 10. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi n-heksan, etil asetat dan air

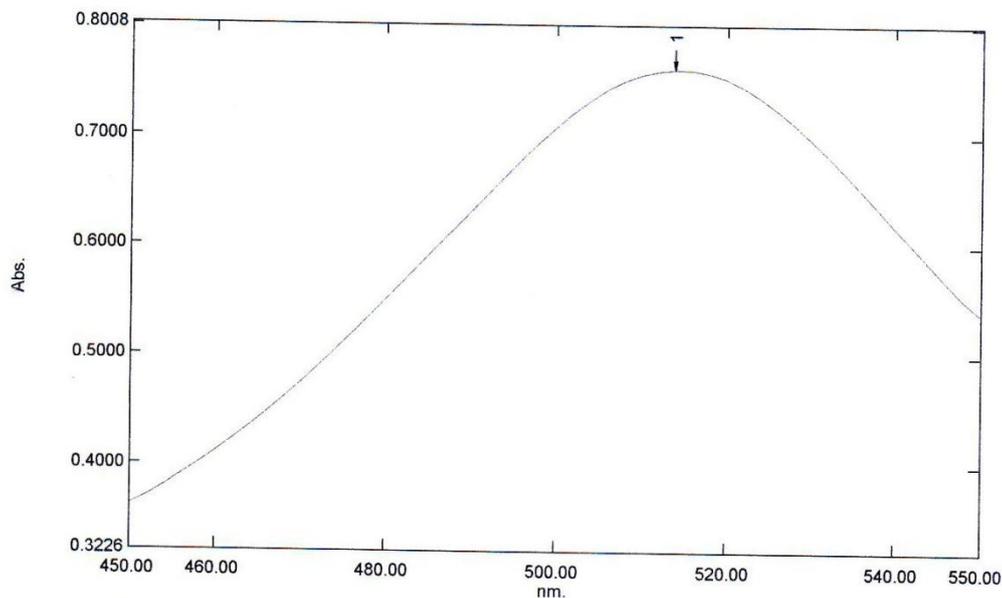
Kandungan senyawa kimia	Pereaksi	Hasil			Pustaka	Keterangan		
		H	E.A	A		H	E.A	A
Flavonoid	Wilstater sianidin	Hijau tua	Cincin merah	Cincin coklat	Merah pada lapisan metanol (Harborne 1987) Cincin	-	+	+
Triterpenoid	Lieberman-burchad	Coklat kemerahan	Merah kecoklatan	Coklat	kecoklatan atau violet (Jones dan Kinghorn 2006)	+	+	+
Tanin	Uji Breame's	Hitam	Biru kehitaman	Biru kehitaman	Biru kehitaman (Robinson 1995)	-	+	+
Saponin	Uji Forth	Tidak terbentuk busa	Tidak terbentuk busa	Busa stabil	Busa stabil (Depkes 2005)	-	-	+
Alkaloid	Uji Dragendorff	Coklat	Coklat	Coklat	Merah sampai jingga (Depkes 1995)	-	-	-

Keterangan: H = n-Heksan E.A = Etil asetat A = Air

Berdasarkan tabel 10 hasil identifikasi kandungan senyawa secara kualitatif fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak metanol daun mangga kasturi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid, triterpenoid dan fraksi air mengandung golongan senyawa saponin, tanin, dan triterpenoid. Sedangkan pada identifikasi senyawa alkaloid menunjukkan hasil negatif pada semua fraksi.

7. Hasil uji aktivitas antioksidan

7.1. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum yang didapat adalah 514,00 nm dengan absorbansi sebesar 0,761. Grafik panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 9. Data panjang gelombang maksimum DPPH 0,4 mM dapat dilihat pada lampiran 11.



Gambar 9. Kurva serapan DPPH

7.2. Hasil penetapan *operating time*. Penetapan *operating time* digunakan untuk menentukan waktu stabil yang dibutuhkan untuk meredam DPPH. Hasil penetapan *operating time* rutin yang didapat yaitu antara menit ke 23-30. Hasil penetapan *operating time* ekstrak metanol yang didapat yaitu antara menit ke 26-30. Sehingga penelitian ini menggunakan menit ke 30 sebagai waktu *operating time*. Hasil penetapan *operating time* rutin dan ekstrak metanol daun mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 20.

7.3. Hasil uji aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan beberapa metode, pada penelitian ini metode yang digunakan adalah pengujian antioksidan dengan penangkap radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan ditandai dengan penangkap elektron oleh radikal bebas yang akan menyebabkan elektron pada radikal bebas menjadi elektron berpasangan, sehingga terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Sunarni 2008).

Ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun mangga kasturi dengan konsentrasi 1000 ppm disebut dengan larutan stok. Larutan uji ini dibuat kedalam 5 seri konsentrasi. Perhitungan seri konsentrasi dan perhitungan aktivitas antioksidan terlampir pada lampiran 15 sampai 20.

Konsentrasi berbanding lurus dengan persen peredaman, semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin tinggi juga persen peredamannya. Mekanisme penangkapan radikal DPPH, dari senyawa antioksidan yang dapat menyebabkan peredaman warna radikal yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning yang nonradikal. Proses perubahan warna yang terjadi karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. hal ini terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan. Struktur DPPH radikal bebas dan DPPH yang telah bereaksi dengan antioksidan dapat dilihat pada gambar 10.



a. *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*

b. *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin*

Gambar 10. Struktur DPPH (a) Radikal Bebas dan (b) Radikal Bebas yang telah bereaksi dengan Antioksidan

Radikal DPPH akan stabil ketika bereaksi dengan zat uji berupa senyawa antioksidan yang menyumbangkan atom hidrogen sehingga menjadi diphenylpicrylhydrazine. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning inilah yang dapat diukur secara spektrofotometri. Pengujian absorbansi peredaman radikal dilakukan dengan pembuatan seri konsentrasi terlebih dahulu pada ekstrak dan masing-masing fraksi, kemudian ditambahkan DPPH pada setiap seri konsentrasi dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan. Pembacaan absorbansi pada penelitian ini dilakukan pada waktu *operating time* yang telah ditentukan yaitu menit ke-30 lalu dihitung persen peredamannya. Hasil pembacaan absorbansi larutan uji dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Nilai rata-rata absorbansi larutan uji

Larutan uji	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Absorbansi	% inhibisi
Fraksi <i>n</i> -heksan	20	0,837	4,994
	40	0,825	6,356
	60	0,799	9,308
	80	0,761	13,621
	100	0,655	25,653
Fraksi etil asetat	20	0,633	27,904
	40	0,524	40,319
	60	0,430	51,025
	80	0,416	52,619
	100	0,341	61,162
Fraksi air	20	0,615	10,610
	40	0,557	19,041
	60	0,532	22,674
	80	0,507	26,308
	100	0,396	42,442
Ekstrak metanol	20	0,818	5,324
	40	0,723	16,319
	60	0,574	33,565
	80	0,480	44,444
	100	0,435	49,653
Rutin	2	0,642	21,993
	4	0,594	27,825
	6	0,522	36,574
	8	0,448	45,565
	10	0,344	58,202

Pengukuran nilai absorbansi peredaman radikal bebas DPPH dilakukan terhadap fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak metanol daun mangga kasturi dan rutin yang dibuat dalam beberapa seri konsentrasi, larutan uji direaksikan dengan larutan radikal DPPH dan didiamkan selama 30 menit sehingga terjadi reaksi yang stabil antara DPPH dengan senyawa aktif yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 514 nm sesuai dengan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH.

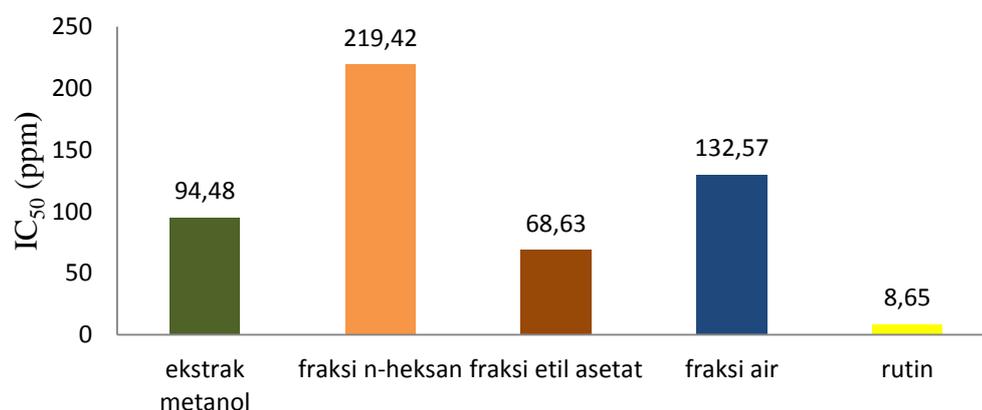
Hasil pengukuran absorbansi pada tabel 11 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji maka nilai absorbansi akan semakin berkurang. Pada fraksi *n*-heksan konsentrasi 20 ppm menunjukkan nilai absorbansi 0,837 kemudian pada konsentrasi 100 ppm terjadi penurunan nilai absorbansi 0,655. Fraksi etil asetat konsentrasi 20 ppm memiliki nilai absorbansi 0,633 kemudian dengan peningkatan konsentrasi menjadi 100 ppm terjadi penurunan nilai absorbansi menjadi 0,341. Fraksi air dengan konsentrasi 20 ppm memiliki nilai

absorbansi 0,615 kemudian dengan meningkatnya konsentrasi menjadi 100 ppm menunjukkan penurunan nilai absorbansi menjadi 0,396. Rutin pada konsentrasi 2 ppm menunjukkan nilai absorbansi 0,642 dengan peningkatan konsentrasi menjadi 10 ppm terjadi penurunan nilai absorbansi menjadi 0,344. Hasil pengukuran absorbansi kemudian dilakukan perhitungan untuk mendapatkan nilai % inhibisi, dengan adanya nilai % inhibisi maka nilai IC_{50} dapat ditentukan.

Aktivitas antioksidan dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak metanol daun mangga kasturi dapat dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibition Concentration*), IC_{50} adalah konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap 50% radikal bebas DPPH selama *operating time*. Data dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak daun mangga kasturi, dan rutin kemudian dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan *regresi linier* berdasarkan rumus $Y = a + bx$. Nilai IC_{50} dari larutan uji ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dapat dilihat pada tabel 12 dengan gambar grafik pada gambar 11.

Tabel 12. Nilai IC_{50}

No	Larutan uji	Nilai IC_{50} (ppm)
1	Fraksi <i>n</i> -heksana	219,42
2	Fraksi etil asetat	68,63
3	Fraksi air	132,57
4	Ekstrak metanol	94,48
5	Rutin	8,65



Gambar 11. Aktivitas antioksidan berdasar nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} dikelompokkan menjadi beberapa golongan, yaitu: nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm masuk dalam golongan sangat kuat, nilai IC_{50} 50 ppm sampai 100 ppm masuk golongan kuat, nilai IC_{50} 101 ppm sampai 150 ppm masuk golongan sedang, nilai IC_{50} lebih dari 150 ppm masuk golongan lemah (Armala 2009), sedangkan nilai IC_{50} yang lebih dari 500 ppm masuk dalam golongan tidak aktif (Jun *et al* 2003).

Rutin merupakan glikosida flavonoid yang digunakan sebagai kontrol positif karena telah terbukti aktivitas antioksidannya. Pada penelitian ini nilai IC_{50} rutin sebesar 8,65 ppm sehingga termasuk kedalam antioksidan sangat kuat. Jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} 68,63 ppm, maka aktivitas dalam menangkap radikal DPPH lebih kuat rutin, hal ini karena rutin merupakan senyawa flavonoid yang efektif untuk meredam aksi radikal (Sari 2012).

Fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} sebesar 219,42 ppm, artinya fraksi n-heksana mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah, aktivitas antioksidan ini paling kecil jika dibanding dengan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi air. Hal ini dikarenakan pada fraksi n-heksan hanya mengandung senyawa triterpenoid dan tidak terkandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang paling besar jika dibanding dengan aktivitas antioksidan fraksi n-heksana dan fraksi air dengan nilai IC_{50} sebesar 68,63 ppm artinya fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, hal ini dikarenakan pada fraksi etil asetat terdapat senyawa flavonoid seperti yang dinyatakan oleh Redha (2010) bahwa senyawa flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkap radikal.

Fraksi air mempunyai nilai IC_{50} sebesar 132,57 ppm, artinya aktivitas antioksidan fraksi air lebih besar jika dibandingkan aktivitas antioksidan fraksi n-heksana. Hal ini disebabkan karena dalam fraksi air terdapat senyawa triterpenoid, tannin, saponin, dan flavonoid yang mampu menangkap radikal.

Nilai IC_{50} ekstrak metanol sebesar 94,48 ppm, artinya aktivitas antioksidan ekstrak metanol lebih kecil jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan fraksi

etil asetat, namun lebih besar jika dibanding dengan fraksi n-heksana, hal ini dikarenakan pada ekstrak metanol belum mengalami proses pemisahan senyawa spesifik yang mempunyai aktivitas antioksidan, sehingga masih mengandung berbagai senyawa yang bermacam-macam. Hasil yang didapat berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, hal ini bisa disebabkan karena perbedaan kondisi dan tempat tumbuh sampel yang digunakan serta proses ekstraksi yang kurang sempurna.

Nilai IC_{50} ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan rutin dilakukan pengujian menggunakan uji *Oneway Anova*, sehingga diketahui secara keseluruhan pengaruh antar konsentrasi ($p \leq 0,05$). Hasil dari analisis statistik menunjukkan bahwa kualitas antioksidan dari ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan rutin terjadi perbedaan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, fraksi *n*-heksana fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 219,42 ppm, 68,63 ppm, 132,57 ppm, dan 94,48 ppm.

Kedua, fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan paling besar dengan nilai IC₅₀ 68,63 ppm.

B. Saran

Pertama, diperlukan penentuan kadar flavonoid total untuk fraksi teraktif untuk membedakan kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat.

Kedua, diperlukan isolasi senyawa dari fraksi teraktif yaitu fraksi etil asetat untuk mendapatkan senyawa flavonoid yang murni.

DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 6-7.
- [Depkes RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 3-12.
- [Depkes RI]. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 301-304.
- [Depkes RI]. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 18;551.
- [Depkes RI]. 2011. Riset kesehatan dasar. Jakarta: badan penelitian dan pengembangan kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 301-304.
- Anonim. 1997. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. 100-105. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Anonim. 2007. *Supplement: Bioflavonoid*. Wellfx.com. Inc
- Abdelnaser AE, Shinkichi T. 2010. *Preliminary phytochemical investigation on mango leaves*. World J Agric Sci. 6: 735-739.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava jurnal *FKIP Universitas Lambung Mengkurat*. Bioscientiae 1 halaman 31-38.
- Akbar HR. 2010. Isolasi Dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan (Skripsi). Bogor: IPB.
- Andriyani S. 2013. Upaya konservasi kasturi (*Mangifera casturi*), Badan penelitian dan pengembangan kehutanan, bogor, <http://forplan.or.id/images/File/Apforgen/flyer/2010/kasturi.pdf>[3desember 2017].
- Anief M. 2003. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktek*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hlm 168-169.
- Antarlina SS. 2009. Identifikasi sifat fisik dan kimia buah-buahan lokal Kalimantan. *Buletin Plasma Nutfah* 15: 80-90.

- Aquariushinta N. 2015. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata* L.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol: 5 hal: 74-82.
- Armala MM. 2009. Daya Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Herba Kenikir (*Cosmos caudatus* H. B. K.) Dan Profil KLT. Skripsi. Fakultas farmasi universitas islam indonesia. Yogyakarta
- Ayala-Silva T, Hamide G, Cristina U. 2003. Physico-chemical Evaluation of 'Casturi' Mango. *Jurnal Proc fla. State Hort*. Vol:126, hal:17-20.
- Bakti AA, Triyasmono L, Rizki MI. 2017. Penentuan kadar flavonoid total dan uji antioksidan ekstrak etanol daun kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*. Vol. 04, hal:102-108.
- Baswarsiati, Yuniarti. 2007. Karakter morfologis dan beberapa keunggulan mangga Podang Urang. *Buletin Plasma Nutfah* 13: 62-69.
- Dai M & Triharman F. 2010. Uji aktivitas penangkap radikal DPPH isolat alfa mangoostin kulit buah manggis. *Pharmacon* 11(2).
- Dehpour AA, Ebrahimzadeh MA, Fazel NS, Mohammad NS. 2009. antioxydant activity of metanol extract of ferula assafoetida ant its essensial oil composition. *Grasas Aceites* 60(4): 405-412.
- Djamil R dan Anelia T. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, Dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 7(1)
- Fakhrudin N, Peni SP, Sutomo, Subagus W. 2013. Antiinflammatory Activity Of Methanolic Extract Of *Mangifera Casturi* In Thioglycollate-Induced Leucocyte On Mice, *Trad. Med. J*, 18 (3): 151-156.
- Ferinanto V. 2013. Aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanolik daun randu (*Ceiba petandra* Gaertn) terhadap radikal DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil) [skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 9-13
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasis P, Iwang S. Penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: Phytochemical Methods.

- Heinrich, Michael, Joanne B, Simon G, Elizabeth M, Williamson. 2014. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Terjemahan oleh Amalia H. Hadinata. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hernani dan Raharjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Swadaya.
- Jun MHY, Fong J, Wan X, Yang CS, Ho CT. 2003. Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones Form Kudzu Root (*Pueraria labata* O.). *Journal Food Science Institute of Technologist*, 68: 2117-2122.
- Jones WP, Kinghorn AD. 2006. Extraction of Plant Secondary Metabolites. In: Sarker SD, Latif Z, Gray AI, eds. *Natural Products Isolation. 2nd Ed*. New Jersey: Humana Press.
- Katno, Kusumadewi AW, Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin daun jati belanda (*Guazuma ulmi folia Lamk.*). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* 1: 38-46.
- Khamidah N. 2016. Uji aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) serta penetapan kadar flavonoid total [skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Khomsan A. 2009. *Rahasia Sehat Dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Kompas Media Nusantara: 12
- Kuntho R.S. 2013. Uji aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanolik daun pulutan (*Urena lobata* L.) terhadap radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil) [skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Kurniawan A. 2011. Aktivitas antioksidan dan potensi hayati dari kombinasi ekstrak empat jenis tanaman obat di Indonesia [skripsi]. Bogor : Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Lukmandaru, G., K. Vembrianto dan A. A. Gazidy, 2012, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kayu *Mangifera indica* L., *Mangifera foetida* Lour, dan *Mangifera odorata* Griff, *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 6 (1).
- Madalena L. 2010. Aktivitas antioksidan herba kate mas (*Euphorbia heterophylla* L.) terhadap radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Farmasi Indonesia* 7(2):78-83.

- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radicals diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26(2):211-219.
- Mustikasari K, Ariyani D. 2008. Study potensi binjai (*Mangifera caesia*) dan kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai antidiabetes melalui skrining fitokimia pada akar dan batang. *Journal sains dan terapi kimia*. Vol: 2, Hal: 64-73.
- Ningsih D.R., Zusfahair, dan Mantari D. 2017. Ekstrak daun mangga (*Mangifera indica* L.) sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albicans* dan identifikasi golongan senyawanya. *Jurnal Kimia Riset*, Vol. 2 No. 1
- Noviana, Supardjan dan Nurrochmad A. 2007. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Oleh Heksagamavunon-1 (HGV-1). *Pharmacon*. Vol. 8, No. 1.
- Ou, B., Huang, D.J., Woodill, M.H., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K., 2002, Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3122-3128.
- Parves GMM. 2016. Pharmaceutical Activities of Mango (*Mangifera indica*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. E-ISSN: 2278-4136.
- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. 2001. *Antioxydant In Food: Practical Application*. Cambridge: Wood Publishing Limited.
- Prakash A. 2001. Antioxydant Activity. *Medallion Laboratories analytical progress*, 19 (2).
- Pratiwi, D. 2009. Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Hitam (*Camellia sinensis* L.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). [Skripsi]. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi: Semarang.
- Putri HL, Retnowati R, Suratmo. 2015. Fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* koestem). *Jurnal kimia student*. Malang. Universitas Brawijaya Malang. Vol: 1, hal: 772-777.
- Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Udayana, Bali.
- Rahim MA, Suartha IN, dan Sudimartini LM. 2017. Efek imunostimulator ekstrak daun kasturi (*Mangifera casturi*) pada mencit. pISSN : 2301-7848.

- Rahmiyani I dan Nurdiyanti L. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangga *Mangifera indica* L. Var. Gedong Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* vol. 16 No. 1.
- Ramphorshad S. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of leaves of medical plant *Hibiscus tiliaceus* L. *Pharmacologyonline* 3:82-87.
- Rastuti U & Purwati. 2012. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kalba (*Albizia falcataria*) dengan metode DPPH dan identifikasi senyawa metabolit sekundernya. *Molekul* 7(1):33-42.
- Rashedy AA, El Khesin MA, Abd Allatif AM. 2014. *Histological parameter related to dwarfism in some mango cultivars*. *World J Agric Sci* 10:216-222.
- Rasyidah K, Nurmuhaimina SA, Komari N, Astuti MD. 2010. Antibakteri fraksi saponin dari batang tumbuhan kasturi (*Mangifera*). *Alchemy Journal of Chemistry* vol. 1 No. 2.
- Redha A. 2010. Struktur, sifat antioksidatif dan perannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian* 9(2): 196-202.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Kosasih Padmawinata, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemah dari: *The Organik Constituents Of Higher Plants*.
- Rohman A & Riyanto S. 2005. Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning secara in vitro. *Majalah Farmasi Indonesia* 16(3): 136-137.
- Sari GAIP. 2012. Uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air ekstrak metanolik daun waru landak (*Hibiscus Mutabilis* L.) terhadap radikal DPPH [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi Surakarta.
- Sastrohamidjojo H. 2001. *Dasar Dasar Spektroskopi. Edisi 2*. Yogyakarta: Liberty.
- Seidel V. 2006. *Initial and bulk extraction*. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Product Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. Hal. 5-35.
- Serlahwaty D, Sugiastuti S, Ningrum RC. 2011. Aktivitas antioksidan ekstrak air dan etanol 70% daun sirih hijau (*Piper betle* L) dan sirih merah (*Piper cf. fragile Benth.*) dengan metode peredaman radikal bebas DPPH. *Jurnal ilmu kefarmasian indonesia* 9(2):143-146.

- Shaban AEA. 2009. Vegetative growth cycles of some mango cultivars in relation to flowering and fruiting. *Word J Agric Sci* 5: 751-759.
- Suganda RK. 2013. Uji aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air ekstrak etanolik daun pulutan (*Urena Lobata* L.) terhadap radikal dpph (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil) [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Suhartati T. 2017. Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri massa untuk penentuan struktur senyawa organik. Bandar Lampung: AURA
- Sunarni T. 2008. Aktivitas antioksidan penangkap radikal daun kepel (*Stelecorpus burahol* (B1.) Hook f. & Th.). majalah farmasi indonesia. 18(3):111-116.
- Supriyatna dkk. 2014. Prinsip Obat Herbal Sebuah Pengantar untuk Fitoterapi. Yogyakarta : Deepublish hlm 34.
- Susilowati N. 2010. Aktivitas antioksidan fraksi fraksi ekstrak metanolik daun seligi (*Phyllanthus buxifolius*. Muell, arg) terhadap radikal bebas DPPH [skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Syah MI, Suwendar, Mulqie L. 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L “arumanis”) pada Mencit Swiss Webster jantan dengan Metode Tes Toleransi Glukosa Oral (Ttgo). *Jurnal penelitian spesia*. Bandung. Universitas islam bandung. Hal: 297-303.
- Tahir I, Wijaya K, Widyaningsih D. 2003. Terapan analisis hansch untuk aktivitas antioksidan senyawa turunan flavon/flavonol. *Seminar on Chemometrics*. Yogyakarta: Departemen Kimia Universitas Gajah Mada.
- Tanaya V, Retnowati R, Suratmo. 2015. Fraksi semi polar dari daun mangga kasturi. *Kimia Student Journal* 1(1): 779-782
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. Skrining Fitokimia dan Ekstraksi. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 7: 98-106.
- Tursiana ED. 2013. Fraksinasi dan identifikasi senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) secara kolom kromatografi [tesis]. Surabaya : Universitas Katolik Widya Mandala.
- Uppu, R.M., Murthy, S.N., Pryor, W.A., and Parinandi, N.L., 2010, *Free Radicals and Antioxidant Protocols*, Humana Press, New York, pp. 51-53.

- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noeron S, penerjemah; Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal: 566-567.
- Wardhani LK, Sulistyani N. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L) Moq.) terhadap *Shigella Flexneri* beserta profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2: 1-16
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Hlm 27-28.
- Windono T, Soediatmoko S, Uut T, Eny E, Eniri S, Tenny IE. 2001. Uji peredaman radikal bebas terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinera* L.) Probolinggo biru dan Bali. *Artocarpus* 1: 35-39.
- Yuliasuti R. 2012. Aktivitas antioksidan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus gangeticus* Hort.) terhadap radikal bebas DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil) [skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
 Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta 57102.Telp. (0271) 717417 ext 171

SURAT KETERANGAN
 No: 018/A.E-I/LAB.BIO/VII/2018

Yang bertanda tangan di bawah ini atas nama Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta menerangkan bahwa:

No	Nama	Nim
1.	Ima Dwiatun	20144167 A
2.	Regina Tia Septiani	20144350 A

Program Studi : S1 Farmasi
 Fakultas : Farmasi
 Perguruan Tinggi : Universitas Setia Budi
 Keperluan : Skripsi

Menyatakan bahwa mahasiswa tersebut telah mendeterminasikan Tanaman **Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.)**. Pendeterminasian dilakukan pada:

Hari : Selasa
 Tanggal : 24 Juli 2018
 Tempat : Laboratorium Biologi

Demikian surat keterangan ini kami buat, harap dipergunakan dengan semestinya.

Surakarta, 24 Juli 2018

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Biologi,

Penanggung jawab determinasi,


Rina Astuti, M.Pd


Siti Kartika Sari, M.Pd.

NIK: 110.1653

Lampiran 2. Bahan

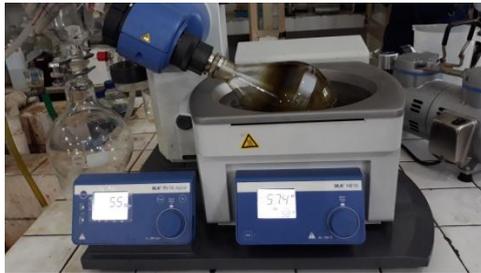
 <p>Metanol</p>	 <p>Serbuk daun mangga kasturi</p>
 <p>Ekstrak daun mangga kasturi</p>	 <p>Fraksi <i>n</i>-heksan</p>
 <p>Fraksi etil asetat</p>	 <p>Fraksi air</p>
 <p>DPPH</p>	 <p>Baku standar rutin</p>

Lampiran 3. Alat

Timbangan elektrik



Timbangan



Rotary evaporator

Spektrofotometer UV Shimadzu
80550

Fraksinasi menggunakan corong pisah



Labu takar

Lampiran 4. Perhitungan rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah

Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah

No	Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%) b/b
1	14	6,8	48,57

Perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat daun kering (kg)}}{\text{berat daun basah (kg)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{14 \text{ (kg)}}{6,8 \text{ (kg)}} \times 100\% = 48,57\%$$

Lampiran 5. Perhitungan rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Rendemen berat serbuk terhadap berat daun basah

No	Bobot kering (kg)	Bobot serbuk (kg)	Rendemen (%) b/b
1	6,8	4,25	62,5

Perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat serbuk halus (kg)}}{\text{berat daun kering (kg)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{4,25 \text{ (kg)}}{6,8 \text{ (kg)}} \times 100\% = 62,5\%$$

Lampiran 6. Perhitungan kadar air serbuk daun mangga kasturi

No	Berat serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,8	9
2	20	1,4	7
3	20	1,4	7
Rata-rata			7,67% ± 1,15

Perhitungan kadar air :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{air (ml)}}{\text{berat serbuk}} \times 100 \%$$

Replikasi 1 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,8}{20} \times 100\% = 9\%$$

Replikasi 2 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,4}{20} \times 100\% = 7\%$$

Replikasi 3 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,4}{20} \times 100\% = 7\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{9+7+7}{3} = 7,67 \%$$

Lampiran 7. Perhitungan rendemen berat ekstrak terhadap berat serbuk daun mangga kasturi

Rendemen berat ekstrak terhadap berat serbuk daun mangga kasturi

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)b/b
400	63,35	15,84

Perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{63,35 (g)}{400 (g)} \times 100\% = 15,84\%$$

Lampiran 8. Perhitungan rendemen pembuatan fraksi

Hasil pembuatan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak metanol daun mangga kasturi

No	Bobot serbuk (gram)	Fraksi	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)b/b
1.		<i>n</i> -heksan	3,08	10,27
2.	30	Etil asetat	6,58	21,93
3.		Air	12,27	40,9

Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat fraksi } n\text{-heksan (g)}}{\text{berat ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{3,08 \text{ (g)}}{30 \text{ (g)}} \times 100\% = 10,27\%$$

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat fraksi etil asetat (g)}}{\text{berat ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{6,58 \text{ (g)}}{30 \text{ (g)}} \times 100\% = 21,93\%$$

Perhitungan rendemen fraksi air:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat fraksi air (g)}}{\text{berat ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{12,27 \text{ (g)}}{30 \text{ (g)}} \times 100\% = 40,9\%$$

Lampiran 9. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak daun mangga kasturi

Senyawa	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	 <p>bahan uji + metanol 5ml ↑, + Mg 0,2 g dan 3 tetes HCL → merah</p>	
Triterpenoid	 <p>bahan uji + as.asetat anhidrid + 2ml H₂SO₄ pekat →cincin kecoklatan</p>	
Tanin	 <p>bahan uji + 10 ml air panas + FeCl₃ 1% →biru kehitaman</p>	
Saponin	 <p>bahan uji + 10 ml air panas, kocok kuat 10 detik →busa stabil</p>	

<p>Alkaloid</p>		<p>bahan uji + 10 tts H_2SO_4 2N + pereaksi Dragendorf → merah sampai jingga</p>	
------------------------	---	---	---

Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan senyawa fraksi n-heksan, etil asetat, dan fraksi air ekstrak daun mangga kasturi

Senyawa	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid			
Triterpenoid			
Tanin			
Saponin			

Alkaloid			
----------	---	--	---

Lampiran 11. Perhitungan pembuatan larutan DPPH 0,4 mM dan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

1. Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 100 mL, serbuk DPPH yang ditimbang untuk membuat larutan sesuai dengan perhitungan :

$$\begin{aligned} \text{Berat serbuk DPPH} &= \text{BM DPPH} \times \text{Volume larutan} \times \text{Molaritas DPPH} \\ &= 394,32 \text{ gram/mol} \times 0,1 \text{ Liter} \times 0,004 \text{ M} \\ &= 0,0158 \text{ gram} \end{aligned}$$

Serbuk sebanyak 0,0158 gram ditimbang dengan seksama kemudian dimasukkan dedalam labu ukur 100 mL dan ditambah dengan metanol sampai tanda batas.

2. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Wavelength	Abs.
514.00	0.7610

Lampiran 12. Perhitungan data konsentrasi larutan induk rutin

1. Penimbangan rutin

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan induk rutin 50 ppm ditimbang rutin 5 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml

2. Pembuatan seri konsentrasi

Larutan induk rutin 50 ppm dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm

Konsentrasi (ppm)	Pengenceran (ml)	Volume yang dibuat (ml)
2	0,4	10
4	0,8	10
6	1,2	10
8	1,6	10
10	2	10

Contoh perhitungan pembuatan konsentrasi 2 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$50 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ ml}$$

Larutan induk rutin 50 ppm dipipet sebanyak 0,4 ml, 0,8 ml, 1,2 ml, 1,6 ml, 2 ml kemudian masing-masing ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 10 ml

Lampiran 13. Perhitungan data konsentrasi larutan uji fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air

1. Penimbangan ekstrak metanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air

$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan induk fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air 1000 ppm ditimbang fraksi 100 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml

2. Pembuatan seri konsentrasi

Larutan induk fraksi 1000 ppm dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm

Konsentrasi (ppm)	Pengenceran (ml)	Volume yang dibuat (ml)
20	0,2	10
40	0,4	10
60	0,6	10
80	0,8	10
100	1	10

Contoh perhitungan pembuatan konsentrasi 20 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml}$$

Larutan induk rutin 50 ppm dipipet sebanyak 0,4 ml, 0,8 ml, 1,2 ml, 1,6 ml, 2 ml kemudian masing-masing ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 10 ml

Lampiran 14. Operating Time larutan standar rutin

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,491
1	0,491
2	0,493
3	0,496
4	0,496
5	0,497
6	0,498
7	0,499
8	0,501
9	0,502
10	0,502
11	0,503
12	0,504
13	0,506
14	0,506
15	0,507
16	0,506
17	0,506
18	0,507
19	0,509
20	0,508
21	0,508
22	0,509
23	0,510
24	0,510
25	0,510
26	0,510
27	0,510
28	0,510
29	0,510
30	0,510

Lampiran 15. Perhitungan IC₅₀ rutin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
2	0,642	21,993	
4	0,594	27,825	
6	0,522	36,574	8,65
8	0,448	45,565	
10	0,344	58,202	

ABSORBANSI BLANGKO DPPH 0,823

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blangko DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blangko DPPH}} \times 100\%$$

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,823 - 0,642}{0,823} \times 100\% = 21,993 \%$$

Perhitungan IC₅₀

Hasil regresi linear

a : 10,984

b : 4,508

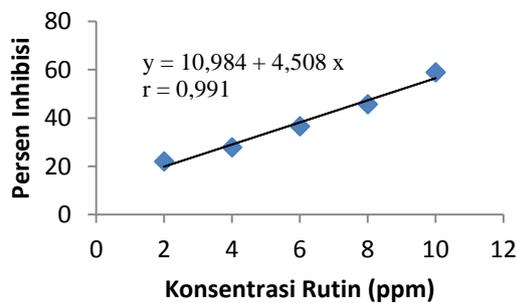
r : 0,991

$y = a + bX$ ($X = \text{IC}_{50}$)

$$50 = 10,984 + 4,508X$$

$$X = \frac{50 - 10,984}{4,508}$$

$$X = 8,65 \text{ ppm}$$



Lampiran 16. Perhitungan IC₅₀ ekstrak

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,818	5,324	
40	0,723	16,319	
60	0,574	33,565	94,48
80	0,480	44,444	
100	0,435	49,653	

ABSORBANSI BLANGKO DPPH 0,864

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blangko DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blangko DPPH}} \times 100\%$$

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,864 - 0,818}{0,864} \times 100\% = 5,324 \%$$

Perhitungan IC₅₀

Hasil regresi linear

$$a : -5,174$$

$$b : 0,584$$

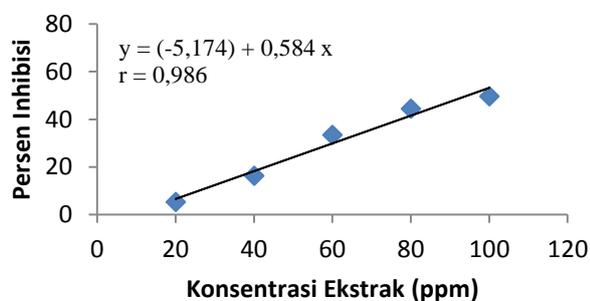
$$r : 0,986$$

$$y = a + bX \quad (X = \text{IC}_{50})$$

$$50 = (-5,174) + 0,584X$$

$$X = \frac{50 - (-5,174)}{0,584}$$

$$X = 94,48 \text{ ppm}$$



Lampiran 17. Perhitungan IC₅₀ fraksi *n*-heksan

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,837	4,994	
40	0,825	6,356	
60	0,799	9,308	219,42
80	0,761	13,621	
100	0,655	25,653	

ABSORBANSI BLANGKO DPPH 0,881

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blangko DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blangko DPPH}} \times 100\%$$

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,881 - 0,837}{0,881} \times 100\% = 4,994 \%$$

Perhitungan IC₅₀

Hasil regresi linear

$$a : -2,589$$

$$b : 0,243$$

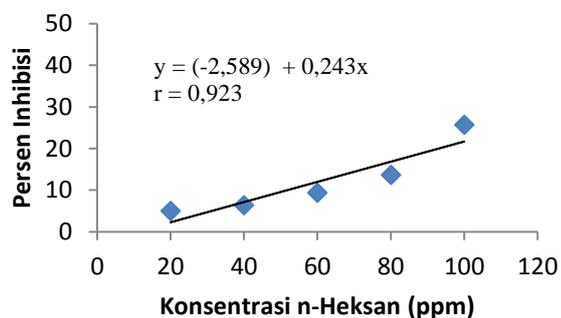
$$r : 0,923$$

$$y = a + bX \quad (X = \text{IC}_{50})$$

$$50 = (-2,589) + 0,243X$$

$$X = \frac{50 - (-2,589)}{0,243}$$

$$X = 219,42 \text{ ppm}$$



Lampiran 18. Perhitungan IC₅₀ fraksi etil asetat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,633	27,904	
40	0,524	40,319	
60	0,430	51,025	68,63
80	0,416	52,619	
100	0,341	61,162	

ABSORBANSI BLANGKO DPPH 0,878

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blangko DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blangko DPPH}} \times 100\%$$

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,878 - 0,633}{0,878} \times 100\% = 27,904 \%$$

Perhitungan IC₅₀

Hasil regresi linear

$$a : 22,961$$

$$b : 0,394$$

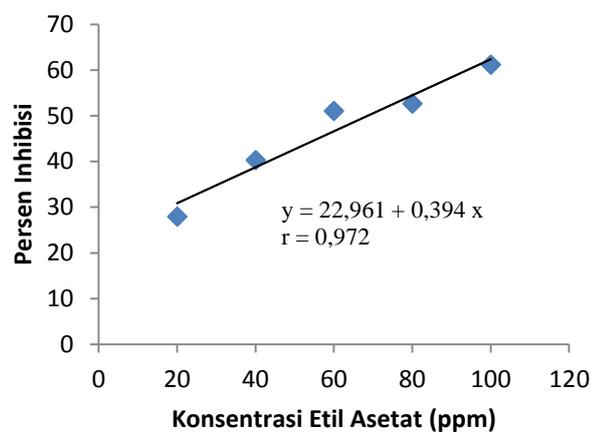
$$r : 0,972$$

$$y = a + bX \quad (X = \text{IC}_{50})$$

$$50 = 22,961 + 0,394X$$

$$X = \frac{50 - 22,961}{0,394}$$

$$X = 68,63 \text{ ppm}$$



Lampiran 19. Perhitungan IC₅₀ fraksi air

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,615	10,610	
40	0,557	19,041	
60	0,532	22,674	132,57
80	0,507	26,308	
100	0,396	42,442	

ABSORBANSI BLANGKO DPPH 0,688

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blangko DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blangko DPPH}} \times 100\%$$

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,688 - 0,615}{0,688} \times 100\% = 10,610 \%$$

Perhitungan IC₅₀

Hasil regresi linear

$$a : 2,936$$

$$b : 0,355$$

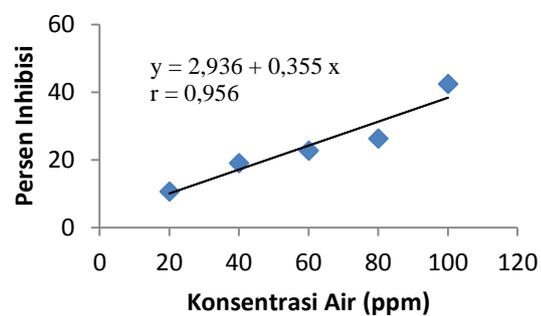
$$r : 0,956$$

$$y = a + bX \quad (X = \text{IC}_{50})$$

$$50 = 2,936 + 0,355X$$

$$X = \frac{50 - 2,936}{0,355}$$

$$X = 132,57 \text{ ppm}$$



Lampiran 20. Uji statistik Oneway ANOVA

NPar Tests

[DataSet1]

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		IC50
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	104.1847
	Std. Deviation	72.30289
Most Extreme Differences	Absolute	.152
	Positive	.152
	Negative	-.132
Kolmogorov-Smirnov Z		.588
Asymp. Sig. (2-tailed)		.880

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

[DataSet1]

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.981	4	10	.006

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73088.400	4	18272.100	1836.067	.000
Within Groups	99.518	10	9.952		
Total	73187.918	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable:IC50

	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
						Tukey HSD	IC50 rutin
		IC50 fraksi nheksan	-210.46333*	2.57575	.000	-218.9404	-201.9863
		IC50 fraksi etil asetat	-60.01000*	2.57575	.000	-68.4870	-51.5330
		IC50 fraksi air	-121.50333*	2.57575	.000	-129.9804	-113.0263
	IC50 ekstrak	IC50 rutin	85.99667*	2.57575	.000	77.5196	94.4737
		IC50 fraksi nheksan	-124.46667*	2.57575	.000	-132.9437	-115.9896
		IC50 fraksi etil asetat	25.98667*	2.57575	.000	17.5096	34.4637
		IC50 fraksi air	-35.50667*	2.57575	.000	-43.9837	-27.0296
	IC50 fraksi nheksan	IC50 rutin	210.46333*	2.57575	.000	201.9863	218.9404
		IC50 ekstrak	124.46667*	2.57575	.000	115.9896	132.9437
		IC50 fraksi etil asetat	150.45333*	2.57575	.000	141.9763	158.9304
		IC50 fraksi air	88.96000*	2.57575	.000	80.4830	97.4370
	IC50 fraksi etil asetat	IC50 rutin	60.01000*	2.57575	.000	51.5330	68.4870
		IC50 ekstrak	-25.98667*	2.57575	.000	-34.4637	-17.5096
		IC50 fraksi nheksan	-150.45333*	2.57575	.000	-158.9304	-141.9763
		IC50 fraksi air	-61.49333*	2.57575	.000	-69.9704	-53.0163
	IC50 fraksi air	IC50 rutin	121.50333*	2.57575	.000	113.0263	129.9804
		IC50 ekstrak	35.50667*	2.57575	.000	27.0296	43.9837

	IC50 fraksi nheksan	-88.96000*	2.57575	.000	-97.4370	-80.4830	
	IC50 fraksi etil asetat	61.49333*	2.57575	.000	53.0163	69.9704	
Bonferro ni	IC50 rutin	IC50 ekstrak	-85.99667*	2.57575	.000	-95.2215	-76.7718
		IC50 fraksi nheksan	-210.46333*	2.57575	.000	-219.6882	-201.2385
		IC50 fraksi etil asetat	-60.01000*	2.57575	.000	-69.2348	-50.7852
		IC50 fraksi air	-121.50333*	2.57575	.000	-130.7282	-112.2785
IC50 ekstrak	IC50 rutin	IC50 rutin	85.99667*	2.57575	.000	76.7718	95.2215
		IC50 fraksi nheksan	-124.46667*	2.57575	.000	-133.6915	-115.2418
		IC50 fraksi etil asetat	25.98667*	2.57575	.000	16.7618	35.2115
		IC50 fraksi air	-35.50667*	2.57575	.000	-44.7315	-26.2818
IC50 fraksi nheksan	IC50 rutin	IC50 rutin	210.46333*	2.57575	.000	201.2385	219.6882
		IC50 ekstrak	124.46667*	2.57575	.000	115.2418	133.6915
		IC50 fraksi etil asetat	150.45333*	2.57575	.000	141.2285	159.6782
		IC50 fraksi air	88.96000*	2.57575	.000	79.7352	98.1848
IC50 fraksi etil asetat	IC50 rutin	IC50 rutin	60.01000*	2.57575	.000	50.7852	69.2348
		IC50 ekstrak	-25.98667*	2.57575	.000	-35.2115	-16.7618
		IC50 fraksi nheksan	-150.45333*	2.57575	.000	-159.6782	-141.2285
		IC50 fraksi air	-61.49333*	2.57575	.000	-70.7182	-52.2685
IC50 fraksi air	IC50 rutin	IC50 rutin	121.50333*	2.57575	.000	112.2785	130.7282
		IC50 ekstrak	35.50667*	2.57575	.000	26.2818	44.7315
		IC50 fraksi nheksan	-88.96000*	2.57575	.000	-98.1848	-79.7352
		IC50 fraksi etil asetat	61.49333*	2.57575	.000	52.2685	70.7182

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

		IC50				
kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a IC50 rutin	3	8.5900				
IC50 fraksi etil asetat	3		68.6000			
IC50 ekstrak	3			94.5867		
IC50 fraksi air	3				130.0933	
IC50 fraksi nheksan	3					219.0533
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.