PENGARUH MODIFIKASI METODE MASERASI TERHADAP KADAR FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifous* Roxb)

SKRIPSI

OLEH :

LOVITA WULANDARI

13 04 003

SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN PERINTIS
PADANG
2018

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah, penulis ucapkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis masih diberi kekuatan dan kemampuan untuk dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi iniyang berjudul "**Pengaruh Modifikasi Metode Maserasi Terhadap Kadar Fenolat dan Aktivitas Antioksidan Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)".**

Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan sarjana strata satu pada Sekolah Tinggi Farmasi Perintis Padang. Dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini penulis tidak terlepas dari do'a dan dorongan yang diberikan orang tua, saudara-saudara serta rekan-rekan penulis, baik materil maupun non materil.

Pada kesempatan ini perkenankan penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada:

1. Kedua Orang Tua Ayahanda (Sahan Aldi, S.Sos), Ibunda (Risma Harli), Kakak-kakak dan adik-adik saya tercinta (Randi Afriansyah, Sitirahma Desmarleni, Rifqi Kasyfur Rahman,) untuk segala kasih sayang, semangat, nasehat beserta do'a tulus ikhlasnya bagi penulis.
2. Ibu Verawati,M.Farm. Apt. dan IbuTisa Mandala Sari,S. Pd, M.Si yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, petunjuk, dan nasehat dalam melaksanakan penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

3. Bapak Prof. Dr. HazliNurdin M. Sc selaku ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia-Yayasan Perintis Padang dan Penasehat Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehat kepada penulis.
4. Seluruh dosen, staf kampus dan analis Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang.
5. Abang Mimi selaku Analis laboratorium Farmasi Unand yang telah membantu dan mengizinkan penulis menggunakan fasilitas dalam penelitian.
6. Para sahabat tersayang (Selda Meylani, Bella Wahyu Lestari, Dina Maretta, Sinta Purnama Sari, Dita Yulisa,Deno Faizal, Andika Permana, Afni Rasita Putri, Ade Nurul Aulia, Cory Putri Maharani) yang telah memberikan dukungan dan do'a untuk penulis.
7. Rekan-rekan seperjuangan penelitian (Nesa Mar'atin Imani, Najmi Khaira, Dede Riski Wahyuda, Welimarsa Eka Putri)
8. Rekan-rekan seperjuangan angkatan 2013, semua panelis dan semua pihak yang turut membantu penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Mudah-mudahan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca lainnya.

Padang, Agustus 2018

Hormat Saya

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh modifikasi metode maserasi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb). Ekstrak total diperoleh dengan cara metoda maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Metode maserasi ini dimodifikasi dengan beberapa cara yaitu maserasi dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jamdengan kecepatan 500 rpm (Modifikasi I), maserasi dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam pada suhu 40^0C dengan kecepatan 500 rpm (Modifikasi II) , maserasi dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit (Modifikasi III), maserasi dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit pada suhu 40^0Cdengan kecepatan 500 rpm dilanjutakan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40^0C (Modifikasi IV).Kadar fenolat total ditentukan dengan metode Folin Ciocalteu dan aktivitas antioksidan dengan metode perangkapan radikal DPPH. Kadar fenolat total yang diperoleh secara berturut-turut yaitu modifikasiI sebesar8,23% diikuti modifikasi II 5,47%, modifikasi III 6,49% dan modifikasi IVsebesar 6,17% dengan kadar fenolat tertinggi diperoleh dari ekstrak dengan modifikasi I yaitu sebesar 8,23%. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} secara berturut-turut yaitu modifikasi I 79,15 μg/mL, modifikasi II 73,10 μg/mL, modifikasi III 78,95 μg/mL dan modifiksi IV 58,44 μg/mLdengan aktivitas antioksidan paling baik diperoleh pada modifikasi IV yaitu sebesar 58,44 μg/mL. Berdasarkan hasil analisa statistika dengan SPSS 16 menggunakan ANOVA satu arah diketahui bahwa modifikasi metode maserasi berpengaruh nyata terhadap kadar fenolat.

ABSTRACT

Research has been conducted on the effect of modification of the maceration method on total phenolic content and antioxidant activity of fragrant pandan leaves (PandanusamaryllifousRoxb). The total extract was obtained by maceration method using 70% ethanol solvent. This maceration method was modified in several ways, namely maceration with magnetic stirrer stirring for 2 hours at a speed of 500 rpm (Modification I), maceration with magnetic stirrer stirring for 2 hours at 400C at a speed of 500 rpm (Modification II), maceration with magnetic stirrer stirring. for 1 hour 30 minutes at a speed of 500 rpm followed by ultrasonication for 30 minutes (Modification III), maceration by stirring the magnetic stirrer for 1 hour 30 minutes at 400C at a speed of 500 rpm followed by ultrasonication for 30 minutes at 400C (Modification IV). Total phenolics were determined by the FolinCiocalteu method and antioxidant activity with DPPH radical combining method. Total phenolics obtained in succession were modification I of 8.23% followed by modification II of 5.47%, modification III of 6.49% and modification IV of 6.17% with the highest phenolics obtained from extracts with modification I namely at 8.23%. Antioxidant activity was shown by IC50 values, which were modification I 79.15 µg / mL, modification II 73.10 µg / mL, modification III 78.95 µg / mL and modification IV 58.44 µg / mL with the most antioxidant activity both obtained in modification IV that is equal to 58.44 µg / mL. Based on the results of statistical analysis with SPSS 16 using one-way ANOVA it is known that the modification of the maceration method has a significant effect on phenolic levels.

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR i

ABSTRAK iii

ABSTRACT iv

DAFTAR ISI v

LAMPIRAN viii

DAFTAR TABEL ix

DAFTAR GAMBAR xi

I. PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 3

1.3 Tujuan Penelitian 3

1.4 Manfaat Penelitian 4

II. TINJAUAN PUSTAKA 5

2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Daun Pandan Wangi 5

2.1.1 Klasifikasi 5

2.1.2 Nama Daerah 5

2.1.3 Tinjauan Morfologi 5

2.1.4 Habitat danPenyebaran 6

2.2 Tinjauan Kandunga Kimia Tumbuhan Daun Pandan Wangi 6

2.2.1 KandunganKimia 6

2.2.2 Fenolat 7

2.2.3 Identifikasi 7

2.2.4 Penetapan kadar 7

2.2.5 Ekstraksi 8

2.3 Tinjauan Farmakologi 14

2.4 Radikal Bebas 16

2.5 Antioksidan 17

2.5.1 Fungsi Antioksidan 18

2.5.2 Sifat-sifat Antioksidan 18

2.5.3 Mekanisme Kerja Antioksidan 18

2.5.4 Metode Antioksidan 19

2.6Spektrofotometer UV-Visible 21

III. PELAKSANAAN PENELITIAN 23

3.1 Waktu dan tempat penelitian 23

3.2 Alat dan Bahan 23

3.2.1 Alat 23

3.2.2 Bahan 23

3.3 Metode Penelitian 24

3.3.1 Pengambilan Sampel dan Identifikasi Sampel 24

3.3.2 Penyiapan Sampel 24

3.3.3 Karakteristik Ekstrak 25

a. Pemeriksaan Organoleptis 25

b. Pemeriksaan Rendemen 25

c. Pemeriksaan Susut Pengeringan 26

3.3.4 Identifikasi Metabolit Sekunder Daun Pandan Wangi 26

3.3.5 Pembuatan Reagen 27

3.3.6 Penentuan Kadar Fenolat Total Dengan Metode Folin-Ciocalteu. 28

3.3.7 Penentuan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH 29

3.4 Pengolahan Data 32

1. Kadar Fenolat Total 32

2. Penentuan Aktivitas Antioksidan 33

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 34

4.1 Hasil 34

4.2 Pembahasan 37

V. KESIMPULAN DAN SARAN 43

5.1 Kesimpulan 43

5.2 Saran 43

DAFTAR PUSTAKA 44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Gambar Diagram Skema Spektrofotometer UV-Vis 21
2. Gambar Tanaman Daun Pandan Wangi 48
3. Surat Identifikasi 50
4. Skema Kerja Ekstrak Daun Pandan Wangi 51
5. Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Ekstrak Daun Pandan Wangi 52
6. Hasil Perhitungan Karakterisasi Ekstrak Daun Pandan Wangi 53
7. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat Dengan Spektrofotometer UV-Vis 54
8. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat 54
9. Skema Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat Spektrofotometer 56
10. Hasil Perhitungan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat 57
11. Hasil Nilai Persamaan Regresi Larutan Standar Asam Galat 58
12. Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Larutan Standar Asam Galat ... 59
13. Hasil NilaiBatas Deteksi Dan Kuantisasi Asam Galat 61
14. Hasil Perhitungan Batas Deteksi Dan KuantisasiAsamGalat 62
15. Hasil Evaluasi Penentuan Kadar Fenolat Total EkstrakDaunPandan Wangi Dengan Menggunakan Spektrofometer UV-Vis 63
16. Skema Penetapan Kadar Fenolat Total Dari Sampel dengan Spektrofotometer UV-Vis 64
17. Hasil Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstral Etanol Daun Pandan Wangi 65
18. Hasil Perhitungan Kadar Fenolat Total DaunPandan Wangi 67

19. Hasil Uji Statistik Modifikasi Dengan Kadar Fenolat Total Dengan . Analisa ANOVA Satu Arah..... 70

20. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH Dengan Spektrofotometer UV-Vis 72

21. Spektrum Panjang Gelombang Maksimum DPPH 73

22. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis 74

23. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat 75

24. Hasil Perhitungan Penentuan Aktivitas Standar Asam Galat..... 76

25. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak Daun Pandan Wangi Dengan Spektrofotometer UV-Vis 77

26. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi ... Dengan Modifikasi I 78

27. Hasil Perhitungan Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi Dengan Modifikasi I 79

28. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi DenganModifikasi II..... 80

29. Hasil Perhitungan Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi DenganModifikasi II 81

30. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi Dengan Modifikasi III..... 82

31. Hasil Perhitungan Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi DenganModifikasi III..... 83

32. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi DenganModifikasi IV 84

33. Hasil Perhitungan Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi DenganModifikasi IV..... 85

34. Hasil Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi Dengan Mg Asam Galat Dari Masing-Masing Modifikasi 86

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Ekstrak Daun Pandan Wangi 52
2. Hasil Pengukuran Absorban Larutan Standar Asam Galat 57
3. Hasil Perhitungan Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat..... 58
4. Hasil Perhitungan Batas Deteksi Dan Kuantisasi Asam Galat 61
5. Hasil Evaluasi Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Pandan Wangi 63
6. Hasil Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi 65
7. Hasil Uji Statistik Modifikasi Dengan Kadar Fenolat Total Dengan Analisa ANOVA Satu Arah..... 70
8. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat 75
9. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Modifkasi I 78
10. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Modifikasi II 80
11. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari ModifikasiIII 82
12. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari ModifikasiIV..... 84
13. Hasil Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi Masing-Masing Modifikasi 86

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Diagram Skematis Spektrofotometer UV-Vis 21
2. Tanaman Daun Pandan Wangi 49
3. Daun Pandan Wangi 49
4. Skema Kerja Ekstraksi Daun Pandan Wangi Dengan Modifikasi Metode Maserasi 51
5. Skema kerja penentuan panjang gelombang maksimum Asam galat Dengan spektrofotometer UV-Vis 54
6. Skema pembuatan kurva kalibrasi asam galat Spektrofotometer UV-Vis 56
7. Kurva Kalibrasi Asam Galat..... 57
8. Skema penetapan kadar fenolat Total Dari sampel Ekstrak Daun Pandan Wangi Spektrofotometeruv-Vis 64
9. SkemaKerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis 72
10. Skema Penentuan AktivitasAntioksidan Standar Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis 74
11. Kurva Aktivitas Antioksi dan Larutan Standar Asam Galat..... 75
12. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak Daun Pandan Wangi Dengan SpektrofotometerUV-Vis..... 77
13. Kurva Aktivitas Antioksi dan Sampel Daun Pandan Wangi Dengan Modifikasi I 78
14. Kurva Aktivitas Antioksi dan Sampel Daun Pandan Wangi Dengan Modifikasi II 80
15. Kurva Aktivitas Antioksi dan Sampel Daun Pandan Wangi Dengan Modifikasi III 82
16. Kurva Aktivitas Antioksi dan Sampel Daun Pandan Wangi Dengan Modifikasi IV 84

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara tropis memiliki beraneka tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia. Masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu telah mengenal dan memanfaatkan tanaman yang mempunyai khasiat obat atau menyembuhkan penyakit. Tanaman tersebut dikenal dengan sebutan tanaman obat tradisional atau obat herbal. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal adalah daun pandan wangi (Agustiningsih, 2010).

Daun pandan wangi merupakan salah satu tanaman digunakan sebagai penambah nafsu makan, penenang, penyedap, pewangi dan pemberi warna hijau pada masakan (Agustiningsih, 2010). Selain itu juga berkhasiat untuk menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, rambut rontok,gangguan saraf, tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah,serta pegal linu (Agustiningsih, 2010). Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) mengandung alkaloida, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, fenil propanoid, dan zat warna (Dalimartha, 2000:103). Banyak metode yang digunakan dalam ekstraksi yang seperti cara dingin yaitu maserasi, perkolasi, dan ultrasonik, sedangkan cara panas yaitu sokletasi, refluks, digestasi, infusa dan dekokta. Senyawa fenol alami terdapat pada buah dan sayur, yang telah banyak dikembangkan peneliti karena efeknya terhadap kesehatan (Rohman, 2006).

Senyawa fenolat merupakan senyawa kimia yang memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih beberapa gugus hidroksi (-OH). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Agustingsih (2010) kadar fenolik total ekstrak daun pandan wangi penyari air = 24,0004 mg/g ekstrak; etanol 96% = 478,7629 mg/g ekstrak; air : etanol 96% (0,5 : 0,5) = 308,9702 mg/g ekstrak. Sejumlah fenolik seperti asam fenolik, flavonoid, tanin, lignin sedangkan non fenolik seperti karotenoid dan vitamin C yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan anti karsinogenik (Shahidi dan Naczk, 1995). Selain itu, senyawa fenolik terbukti mampu menurunkan resiko kanker, penyakit jantung koroner, strok, arterosklerosis, inflamasi yang dapat dihubungi dengan stres oksidatif (Surh, 2003).

Penggunaan senyawa antioksidan akhir-akhir ini berkembang pesat, baik untuk makanan maupun pengobatan, seiring dengan makin bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas terhadap penyakit. Antioksidan diketahui dapat menghambat kerja radikal bebas (Hanin, *et al*, 2005).Sejalan dengan itu, (Black 1990) menyatakan bahwa antioksidan memiliki potensi sebagai fotoprotektor. Cahaya UV dapat memacu pembentukkan sejumlah senyawa dengan relatif atau radikal bebas sehingga senyawa dengan kemampuan antioksidan dapat mengurangi efek yang merugikan dari radikal bebas. Secara alami beberapa jenis tumbuhan merupakan sumber antioksidan, hal ini dapat ditemukan pada beberapa jenis sayuran, buah-buahan dan rempah-rempah (Praptiwi, 2006).

Penelitian ini telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh modifikasi metode maserasi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan daun pandan

wangi. Modifikasi metode maserasi yang digunakan yaitu maserasi dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm (Modifikasi I), maserasi dengan pengadukan *magnetic stirrer* pada suhu 40ºC selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm (modifikasi II), maserasi dengan pengadukan *magenetic stirrer* selama 1 jam 30 menit dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40 Khz (modifikasi III), dan maserasi dengan pengadukan *magnetik stirrer* selama 1 jam 30 menit pada suhu 40ºC dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40ºC dengan frekuensi 40 Khz (modifikasi IV). Selanjutnya dilakukan penetapan kadar fenolat total dengan metode folin-ciocalteau dan aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) terhadap ekstrak daun pandan wangi hasil modifikasi maserasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

1.2 Perumusan Masalah

1. Berapa kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) dengan modifikasi I, modifikasi II, modifikasi III, dan modifikasi IV?
2. Apakah ada pengaruh modifikasi metode maserasi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb).

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) dengan modifikasi I, modifikasi II, modifikasi III, dan modifikasi IV.

2. Mengetahui pengaruh modifikasimetode maserasi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb).

1.4 Manfaat penelitian

1. Mendapatkan metoda ekstraksi yang efektif dari tanaman.
2. Mengetahui kadar fenolat dari daunpandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) dan aktivitas antioksidan.
3. Menambah informasi ilmiah mengenai khasiat dari pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) sebagai antioksidan.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tijauan Botani Daun Pandan Wangi *(Pandanus amaryllifous) Roxb.)*

2.1.1Klasifikasi Tanaman Daun Pandan Wangi (Rohmawati,1995)

Tumbuhan daun pandan wangi ini diklasifikasi sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

Kingdom : Plantae

Kelas : Liliopsida

Ordo : Pandanales

Family : Pandanaceae

Genus : Pandanus

Spesies : *Pandanus amaryllifolius*

2.1.2 Nama Daerah

Daunnya merupakan komponen penting dalam tradisi masakan Indonesia dan negara-negara Asia Tenggara lainnya. Di beberapa daerah, tanaman ini dikenal dengan berbagai nama antara lain: Pandan Rampe, Pandan Wangi (Jawa); Seuke Bangu, Pandan Jau, Pandan Bebau, Pandan Rempai (Sumatera); Pondang, Pondan, Ponda, Pondago (Sulawesi); Kelamoni, Haomoni, Kekermoni, Ormon Foni, Pondak, Pondaki, Pudaka (Maluku); Pandan Arrum (Bali), Bonak (Nusa Tenggara).

2.1.3 Tinjauan Morfologi

Pandan wangi adalah jenis tanaman monokotil dari famili*Pandanaceae*.Pandanus umumnya merupakan pohon atau semak yang tegak, tinggi 3–7 meter, bercabang, kadang-kadang batang berduri, dengan akar tunjang sekitar pangkal batang. Daun umumnya besar, panjang 1–3 m, lebar 8–12cm; ujung daun segitiga lancip-lancip; tepi daun dan ibu tulang daun bagian bawah berduri, tekstur daun berlilin, berwarna hijau muda–hijau tua. Buah

letaknya terminal atau lateral, soliter atau berbentuk bulir atau malai yang besar (Rahayu SE dan S Handayani, 2008).

2.1.4 Penyebaran Daun Pandan Wangi

Tanaman pandan wangi dapat dengan mudah dijumpai di daerah tropis dan banyak ditanam di halaman, di kebun, di pekarangan rumah maupun tumbuh secara liar di tepi-tepi selokan yang teduh. Selain itu, tumbuhan ini dapat tumbuh liar ditepi sungai, rawa, dan tempat-tempat lain yang tanahnya agak lembab dan dapat tumbuh subur dari daerah pantai sampai di daerah dengan ketinggian 500 meter-dpl (di bawah permukaan laut) (Dalimartha, 2009).

2.2 Tinjauan Kimia Daun Pandan Wangi

2.2.1 Kandungan Kimia

Pandan wangi memiliki aroma yang khas pada daunnya. Komponen aroma dasar dari daun pandan wangi itu berasal dari senyawa kimia 2-acetyl-1-pyrroline (ACPY) yang terdapat juga pada tanaman jasmin, hanya saja konsentrasi ACPY pada pandan wangi lebih tinggi dibandingkan dengan jasmin (Cheetangdee dan Sine, 2006).

Daun Pandan Wangi mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, polifenol, flavonoid, kumarin, terpen dan terpenoid, essential oil, karotenoids, kuercetin (Lee et al., 2004; Lopez dan Nonato, 2005). Berdasarkan penelitian Agustiningsih et al., (2010) disebutkan bahwa daun pandan wangi memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi dimana hasil maserasi daun pandan wangi dengan etanol 96% mengandung kadar fenolik total sebesar 478,762 mg/g.

2.2.2 Fenolat

Senyawa fenolat merupakan suatu senyawa yang memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksi (OH^-). Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena pada umumnya sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat pada vakuola sel. Senyawa fenolat kebanyakkan memiliki gugus hidroksil lebih dari satu sehingga disebut polifenol. Senyawa fenol yang terdapat dalam tumbuhan seperti golongan flavonoid yang merupakan turunan kumarin dan asam sinamat seperti asam galat dan katekin. Turunan flavonoid seperti lignin yang berfungsi sebagai bahan pembangun dinding sel, antosianin sebagai pigmen pada bunga, melanin, dan tanin (Harborne, 1978).

2.2.3 Identifikasi

Identifikasi senyawa fenolat dapat digunakan dengan cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana ialah dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam air atau etanol kepada larutan cuplikan, yang menimbulkan warna hijau, merah ungu, biru atau hitam yang kuat (Harborne, 1987).

2.2.4 Penetapan Kadar (Watson,2009)

Penetapan kadar fenolat dapat dilakukan dengan cara yaitu :

Metode Folin-Ciocalteu

Penentuan senyawa fenolat dapat dilakukan dengan menggunakan Folin Ciocalteu. Folin Ciocalteu adalah salah satu metode penentuan kadar senyawa fenolat yang sering digunakan. Metode ini menggunakan pereaksi yang memiliki nama sama dengan metodanya yaitu Folin Ciocalteu. Keuntungan yang didapat dari metode ini adalah menggunakan jumlah pereaksi yang lebih sedikit. Folin Ciocalteu merupakan pereaksi fenol yang

bekerja dengan cara mereduksi senyawa fenolat atau non fenolat untuk membentuk kromogen atau gugus kromofor yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer pada daerah sinar tampak. Reaksi yang terjadi ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari warna kuning menjadi warna biru komplek.

2.2.5 Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah suatu proses penarikan zat yang dapat larut dalam pelarut cair sehingga terpisah dengan bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Faktor kecepatan difusi sangat mempengaruhi kecepatan penyarian, karena dalam penyarian, larutan harus melewati lapisan batas antara butir serbuk dengan cairan penyari. Kecepatan melintasi lapisan batas dipengaruhi oleh derajat perbedaan konsentrasi, tebal lapisan batas, serta koefisien difusi (DepKes RI, 1986).

Ekstrak merupakan kumpulan senyawa-senyawa dari berbagai golongan yang terlarut didalam pelarut yang sesuai, termasuk didalamnya senyawa-senyawa aktif atau yang tidak aktif. Pengolahan ekstraksi bahan tumbuhan obat dengan pelarut yang sesuai (air, alkohol dan pelarut organik lain) menjadi ekstrak cair atau ekstrak kering banyak dilakukan untuk tujuan standarisasi sediaan obat herba sekaligus memberi keuntungan dari segi formulasi sediaannya(Sidik dan Mudahar, 2000).

Pemilihan pelarut sangat penting dalam proses ekstraksi sehingga bahan berkhasiat yang akan ditarik dapat tersari sempurna. Departemen Kesehatan merekomendasikan air, alkohol dan air dengan alkohol untuk cairan penyari ekstrak untuk keperluan bahan baku obat tradisional (Farouq, 2003).

Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Serbuk simplisia diekstraksi berturut-turut dengan pelarut yang berbeda polaritasnya. Proses ekstraksi merupakan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dengan zat yang diinginkan larut.

Metode ekstraksi akan memisahkan metabolit tanaman yang larut dan menyisakan yang tidak terlarut. Produk hasil ekstraksi tanaman mengandung campuran metabolit yang sangat kompleks (Hardhani, A. S., 2008). Senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Bila sudah diketahui senyawa aktif yang dikandung oleh simplisia tersebut, akan mempermudah dalam pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (DepKes, 2000).

Faktor penting dalam proses ekstraksi adalah simplisia, pelarut, dan metode ekstraksi. Masing-masing faktor diuraikan sebagai berikut:

a. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat dibagi menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

Tahapan pembuatan simplisia dimulai dengan pengumpulan bahan baku. Tahap selanjutnya adalah sortasi basah, pencucian, perajangan, dan pengeringan. Tahapan terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

b. Pelarut

Pelarut atau cairan penyari yang akan digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa berkhasiat yang diinginkan, sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan antara bahan dan kandungan lain yang tidak diinginkan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Selain itu, pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor, diantaranya adalah: murah dan mudah diperoleh; stabil secara fisika dan kimia; bereaksi netral atau inert; tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar; selektif, yang berarti hanya menarik zat berkhasiat yang diinginkan; tidak mempengaruhi senyawa aktif; diperbolehkan oleh peraturan atau mendapat izin Departemen Kesehatan. Penggunaan pelarut pada perusahaan obat tradisional adalah aquades (air), etanol atau etanol-air. Pelarut akuades digunakan karena murah dan mudah diperoleh stabil tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar; tidak beracun; dan alami, namun kekurangan akuades sebagai cairan penyari yaitu tidak selektif sari dapat ditumbuhi kapang atau kuman sehingga cepat rusak; dan penguapannya diperlukan waktu yang lama (DepKes RI, 1986). Pelarut etanol digunakan sebagai cairan penyari dengan pertimbangan dapat melarutkan berbagai senyawa, merupakan pelarut universal; kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas tidak beracun netral etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan; untuk menguapkan pelarut dibutuhkan waktu yang relatif lebih cepat, sedangkan kerugiannya adalah pelarut etanol lebih mahal harganya dibandingkan dengan air atau aquades (DepKes RI, 1986).

c. Metode ekstraksi

1. Cara dingin

1). Maserasi

Maserasi adalah suatu proses pengekstraksian simplisia dalam suatu wadah yang diberi pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Campuran simplisia dan pelarut kemudian dipisahkan, ampasnya akan mengendap dan maserat didapatkan dengan penyaringan sehingga tidak ada sisa simplisia yang terbawa. Maserasi kinetik berarti adanya pengadukan yang berulang (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringanpertama dan seterusnya (DepKes RI, 2000; Hardhani, A. S., 2008).

Keuntungan ekstraksi secara maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta mudah dilakukan. Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna. Ekstraksi secara maserasi diperlukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga derajat perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan pelarut akan tetap terjaga. Hasil penyarian atau maserat perlu dibiarkan selama waktu tertentu agar zat-zat yang tidak diperlukan mengendap (DepKes RI, 1986).

2). Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan cara melewatkan pelarut secara lambat pada simplisia dalam suatu alat perkolator pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi

sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan (DepKes RI, 2000).

2. Cara panas

1). Sokletasi

Sokletasi merupakan proses ekstraksi yang menggunakan penyarian berulang dan pemanasan. Penggunaan metode sokletasi adalah dengan cara memanaskan pelarut hingga membentuk uap dan membasahi sampel. Pelarut yang sudah membasahi sampel kemudian akan turun menuju labu pemanasan dan kembali menjadi uap untuk membasahi sampel, sehingga penggunaan pelarut dapat dihemat karena terjadi sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas. (DepKes, 1986).

2). Refluks

Refluks adalah ekstrak dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstrak sempurna (DepKes RI, 2000).

3). Ultrasonikasi (Cannell, 1998)

Ultrasonikasi adalah metode ekstraksi yang dimodifikasi dimana ekstraksi difasilitasi dengan menggunakan ultrasound (frekuensi tinggi 20 kHz). Ekstrak ditempatkan dalam botol. Vial ditempatkan dalam penangas ultrasonik, dan USG digunakan untuk menginduksi mekanik pada sel melalui produksi kavitasi dalam sampel. Efisiensi ekstrak tergantung pada frekuensi instrumen, panjang dan suhu sonikasi.

Penggunaan ultrasonik pada dasarnya menggunakan prinsip dasar yaitu dengan mengamati sifat akustik gelombang ultrasonik yang dirambatkan melalui medium yang dilewati. Pada saat gelombang ultrasonik yang dirambatkan melalui medium yang dilewati. Pada saat gelombang merambat, medium yang dilewatinya akan mengalami getaran. Getaran akan memberikan pengadukan yang intensif terhadap proses ekstraksi. Pengadukan akan meningkatkan osmosis antara bahan dengan pelarut sehingga akan meningkatkan proses ekstraksi.

4). Digestasi

Digestasi adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C. Cara ini dilakukan untuk simplisia yang pada suhu kamar tidak terekstraksi dengan baik (DepKes RI, 2000).

5). Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (DepKes RI, 2000).

6). Dekokta

Dekokta adalah suatu proses ekstraksi yang hampir sama dengan infusa, tetapi dekokta dipanaskan selama 30 menit sampai dengan 90°C. Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri atau simplisia yang mengandung bahan yang tahan terhadap pemanasan (DepKes RI, 2000).

2.3 Tinjuan Farmakologi (Dalimartha, 2000)

Secara tradisional daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) digunakan sebagai:

1. Lemah Saraf

Ambil 3 helai daun pandan segar, cuci, lalu potong kecil-kecil. Rebus dengan 3 gelas air, sampai kira-kira tersisa 2 gelas. Dinginkan, saring, kemudian diminum pagi dan sore, masing-masing 1 gelas.

2. Rematik dan Pegal Linu

Gunakan 3 helai daun pandan segar, cuci bersih lalu diiris tipis-tipis. Seduh dengan ½ cangkir minyak kelapa yang telah dipanaskan, aduk rata. Dinginkan, kemudian gosokkan pada bagian tubuh yang sakit.

Atau bisa juga dengan :

5 helai daun pandan segar, dan 20 helai daun serai. Cuci bersih, lalu ditumbuk sampai halus. Tambahkan minyak kayu putih dan minyak gandaoura masing-masing 1 sendok makan. Aduk sambil diremas sampai rata, lalu gosokkan dan urut pada bagian tubuh yang sakit.

3. Gelisah

Ambil 2 helai daun pandan segar, cuci, lalu diiris tipis-tipis. Seduh dengan segelas air panas. Dinginkan, lalu saring dan diminum sekaligus. Lakukan 2-3 kali sehari hingga perasaan menjadi tenang.

4. Rambut Rontok

Gunakan 1 helai daun pandan, 10 helai daun waru muda yang segar, segenggam daun urang-aring, 5 helai daun mangkokan, 10 kuntum bunga melati, dan 1 kuntum bunga mawar. Cuci bersih, lalu potong secukupnya. Masukkan semua bahan ke dalam panci email, tambahkan minyak wijen, minyak kelapa dan minyak

kemiri masing-masing ½ cangkir. Didihkan, lalu diangkat. Dinginkan, kemudian disaring. Oleskan ke seluruh kulit kepala sambil dipijat ringan. Lakukan malam hari sebelum tidur, esok paginya rambut dikeramas. Dapat dilakukan 2-3 kali seminggu.

5. Menghitamkan rambut

Gunakan 7 helai daun pandan segar, cuci, lalu potong-potong. Rebus dengan 1 liter air hingga warna air menjadi hijau. Embunkan air rebus semalam. Paginya, campurkan dengan air perasan 3 buah mengkudu matang. Air campuran ini digunakan untuk mencuci rambut. Lakukan 3x seminggu hingga rambut menunjukkan perubahan.

6. Ketombe

Daun pandan segar sebanyak 7 lembar dicuci bersih lalu digiling halus. Tambahkan ½ cangkir air bersih sambil diremas merata. Peras dan saring. Air perasan daun pandan ini lalu dioleskan ke seluruh kulit kepala yang berketombe. Biarkan mengering, kalau perlu oleskan diulang sekali lagi. Kira–kira ½ - 1 jam kemudian, rambut dibilas dengan air bersih. Lakukan setiap hari sampai sembuh.

7. Daun Pandan Wangi sebelumnya telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional antara lain untuk menyegarkan tubuh, menurunkan demam, mengatasi kerontokan, dan sebagai penenang. Kandungan minyak atsiri dari daun pandan wangi diketahui memiliki aktivitas sebagai stimulan, serta efektif untuk mengurangi sakit kepala, dan epilepsi (Cheeptham dan Towers, 2002).

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (kehilangan satu atau

lebih elektron yang bermuatan listrik), untuk mengembalikan keseimbangannya maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut (Praptiwi., *el al*, 2006).

Radikal bebas ini berbahaya karena amat reaktif mencari pasangan elektronnya. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh maka akan tejadi reaksi berantai dan menghasilkan raikal bebas baru akhirnya jumlah terus bertambah. Selanjutnya akan menyerang sel-sel tubuh kita sehingga terjadilah kerusakan jaringan yang akan mempercepat proses penuaan (Subuea, P., 2004). Radikal bebas memiliki dua sifat, yaitu reaktivitas tinggi, karena kecenderungan menarik elektron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal (Suryohudoyo, 1993).

Pembentukan radikal bebas ada 2 cara :

a. Endogen

   Secara endogen radikal bebas terbentuk sebagai respon normal dari rantai peristiwa kimia dalam tubuh yang berupa hasil samping dari peristiwa kimia tersebut, misalnya Autooksidasi, oksidasi enzimatis dan proses respirasi.

b. Eksogen

   Secara eksogen radikal bebas yang dibentuk dari proses luar tubuh bisa disebabkan dari polusi, asap rokok, gas, zat tambahan makanan, obat-obatan dan radiasi.

2.5 Antioksidan

Antioksidans adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat mencegah proses oksidasi lipid radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh dari luar tubuh seperti makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E, dan betakaroten serta senyawa fenolat. Antioksidan mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektron kepada radikal bebas sehingga menjadi stabil dantidak toksik (Winarsi,2007).

Antioksidan ada 3 macam (Winarsi, 2007) :

a. Antioksidan alami

   Antioksidan yang diperoleh dari tumbuhan dan hewan seperti : tokoferol, vitamin C, betakaroten, Flavonoid dan senyawa fenolik.

b. Antioksidan sintetik

   Antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia yaitu butil hidroksil anisol (BHA), butil hidroksil toluen (BHT), propil galat, tert butil hidroksil kuinon (TBHQ).

c. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh

   Antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri berupa enzim seperti : superoksidan dismutase, glutation peroksidase, peroksidasi dan katalase.

2.5.1 Fungsi Antioksidan (Kuncahyo & Sunardi,2007 ; Praptiwi, Dewi, Harapini, 2006)

Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri

makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkadung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi.

Fungsi antioksidan antara lain :

1. Menghambat laju oksidasi bila bereaksi dengan radikal bebas.
2. Menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker, serta gejala penuaan.

2.5.2 Sifat-sifat Antioksidan (Suhartono, 2002)

Secara umum antioksidan diharapkan memiliki sifat sebagai berikut :

1. Aman dalam penggunaan
2. Efektif pada konsentrasi rendah
3. Tahan terhadap proses perolehan
4. Tidak memberikan rasa, bau, dan warna pada produk

2.5.3 Mekanisme Kerja Antioksidan (Winarsi, 2007)

Berdasarkan mekanisme reaksi terhadap radikal bebas, antioksidan dibedakan atas 3 bagian, yaitu :

1. Antioksidan primer

   Antioksidan primer merupakan antioksidan yang berfungsi menghambat atau memutuskan mekanisme radikal bebas pada proses autooksidasi, dimana antioksidan ini berperan sebagai donor hidrogen dan dapat juga berperan sebagai akseptor elektron.

2. Antioksidan sekunder

   Antioksidan sekunder dikenal antioksidan preventif sifatnya menurunkan kecepatan reaksi inisiasi melalui berbagai mekanisme, seperti melalui ikatan ion-ion logam, penangkapan oksigen, penguraian hidroperoksida menjadi

produk-produk non radiasi, penyerapan radiasi ultraviolet deaktivitasi singlet oksigen. Contohnya asam sitrat, asam askorbat.

3. Antioksidan tersier

Antioksidan ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contohnya adalah enzim metionin, sulfoksidan reduktase yang memperbaiki DNA.

2.5.4 Metode Antioksidan (Antolovich, 2002)

1. Uji Dpph

   DPPH merupakan suatu radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Delokalisasi elektron bebas ini juga mengakibatkan terbentuknya warna ungu pada larutan DPPH sehingga bisa diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm. Ketika larutan DPPH dicampur dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, maka warna ungu dari larutan akan hilang seiring dengan tereduksinya DPPH. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini berdasarkan dari hilangnya warna ungu akibat tereduksinya oleh antioksidan, intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Pada metode ini tidak diperlukan yaitu lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih cepat.

2. Uji FRAP

   Metode FRAP adalah satu-satunya metode yang secara langsung memgukur antioksidan dalam bahan, mengamukakan bahan metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam

tumbuh-tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya yang murah, cepat, reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan. Hail pengujian diinterprestasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm dan dapat disimpulkan sebagai jumlah Fe2+ ekuivalen dengan antioksidan standar.

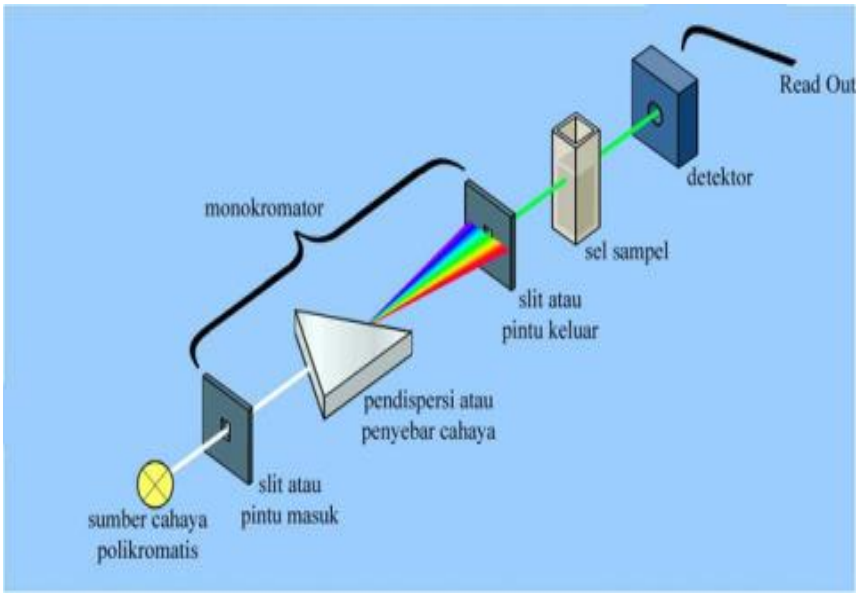
3. Uji ABTS

   ABTS merupakan substrat dari peroksidase, dimana ketika dioksidasi dengan kehadiran H2O2 akan membentuk senyawa radikal kation metastabil dengan karakteristik menunjukan absorbansi kuat pada panjang gelombang 414 nm. ABTS merupakan senyawa larut air dan stabil sevara kimia. Akumulasi dari ABTS dapat dihambat oleh antioksidan pada medium reaksi dengan aktivitas yang bergantungan waktu reaksi dan jumlah antioksidan. Kemampuan relatif antioksidan untuk mereduksi ABTS dapat diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 743 nm.

2.6Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer UV- VIS adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet/cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Spektrofotometer UV- VIS mempunyai 2 kegunaan yaitu untuk analisa kualitatif dan analisa kuantitatif. Pada analisa kualitatif dapat dilakukan penentuan struktur molekul berdasarkan spektrum serapan, sedangkan analisa kuantitatif dapat

dilakukan pengukuran absorban/transmitan pada suatu panjang gelombang tertentu. (Clifford,1987)



Gambar 1. Diagram Skematis Spektrofotometer UV-Vis(Watson, 2009)

Keterangan:

1. Sumber cahaya

   Untuk mendapatkan pengukuran absorban yang cocok, sumber cahayahendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan yang cukup kontinue dan merata pada panjang gelombang yang dikehendaki serta stabil selama waktu yang diperlukan.

2. Monokromator

   Sumber cahaya yang biasa digunakan memancarkan sinar kontinue, meliputi panjang gelombang yang bebas, bersifat polikromik yaitu terdiri dari banyak panjang gelombang dengan nilai berbeda. Oleh karena itu digunakan monokromator yang dapat bertindak sebagai pengurai polikromatis menjadi panjang gelombang yang lebih kecil atau menjadi pita yang sempit sehingga mendekati keadaan monokromatis.

3. Kuvet

Kuvet atau bejana tempat larutan, dibuat sedemikian rupa sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk. Kuvet yang digunakan untuk sinar tampak biasanya terbuat dari kaca/plastic sedangkan untuk UV digunakan kuarsa.

4. Detektor

Detektor yaitu suatu alat yang dapat merubah energi sinar menjadi listrik, dengan menyerap energi foton sinar yang jatuh dirubah menjadi besaran yang dapat diukur.

5. Meter/ Rekorder

Merupakan suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor untuk analisa kimia secara spektrofotometri, pengaruh berkurangnya intensitas sinar yang disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang sama, disebut blanko.

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini telahdilaksanakan selama ± 3 bulandi Laboratorium Penelitian Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang dan Laboratorium Penelitian Falkultas Farmasi Universitas Andalas.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat *Rotary Evaporator*, , seperangkat alat hot plate dan *magnetic stirrer*, seperangkat alat ultrasonifikasi, corong, gelas ukur, sudip, spatel, pipet tetes, Erlemeyer, labu ukur, beaker glass , kaca arloji, vial, botol berwarna gelap, timbangan analitik, tabung reaksi,kapas, plat tetes, cawan penguap, blender,separangkat alat spektrofotometer UV 1700 Series.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb), $FeCl_3$, logam Mg,pereaksi Lieberman-Bouchard (asam asetat anhidrat dengan H_2SO_4 2N), kloroform amoniak 0,05N, H_2SO_4 2N, reagen HCL pekat, etanol 96%, aquadest, natrium sulfat anhidrat, asam hidroklorida, metanol, DPPH, asam galat, natrium karbonat 1M, reagen Folin-Ciocalteu.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel yang digunakan diambil di daerah Parak Laweh Lubuk Begalung Kota Padang, Sumatera Barat dan sampel telah diidentifikasi di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang.

3.3.2 Penyiapan Sampel

Sampel berupa daun pandan yang segar sebanyak 1 kg dibersihkan, dicuci kemudian dikering anginkan lalu diserbukkan dan ditimbang masing-masingnya sebanyak 50 gram digunakan untuk teknik maserasi yang berbeda yaitu :

a. Modifikasi I

   Masukkan serbuk daun pandan wangi sebanyak 50 gram ke dalam erlenmayer yang telah terdapat *magnetic stirrer* di dalamnya tambahkan etanol 70% sebanyak 500 ml (1:10) ml. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan distirrer selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm. Larutan yang sudsh selesai disaring kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

b. Modifikasi II

   Masukkan serbuk daun pandan wangi sebanyak 50 gram ke dalam erlenmayer yang telah terdapat *magnetic stirrer* di dalamnya tambahkan etanol 70% sebanyak 500 ml (1 : 50 ml). Erlenmeyer dengan aluminium foil dan distirrer ditutuppada suhu 40^{o}Cselama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm. Larutan yang sudah selesai disaring kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

c. Modifikasi III

   Masukkan serbuk daun pandan wangi sebanyak 50 gram ke dalam erlenmayer yang telah terdapat *magnetic stirrer* di dalamnya tambahkan etanol 70% sebanyak 500 ml (1 : 10 ml). Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan stirrer selama 1 jam 30 menit dengan kecepatan 500 rpm, dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 30 menit. Larutan yang sudah selesai disaring kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

d. Modifikasi IV

Masukkan serbuk daun pandan wangi sebanyak 50 gram ke dalam erlenmayer yang telah terdapat *magnetic stirrer* di dalamnya tambahkan etanol 70% sebanyak 500 ml (1 : 10 ml). Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan distirrer selama 1 jam 30 menit pada suhu 40˚C dengan kecepatan 500 rpm, dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40ºC. Larutan yang sudah selesai disaring kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

3.3.3 Karakteristik Ekstrak Daun Pandan Wangi

a. Pemeriksaan Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, bau, dan rasa.

b. Rendemen

Timbang daun pandan wangi kemudian ekstrak yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung rendemen dengan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Beratsampel kering}} \text{ X } 100\%$$

c. Susut pengeringan

Keringkan krus porselen dan tutupnya di dalam oven pada suhu 105˚C selama 30 menit dan dibiarkan dingin, lalu ditimbang beratnya (A), goyang krus agar ekstrak merata (B) dan masukkan ke dalam oven, selama 1 jam. Setalah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang (C). Lakukan pengulangan seperti cara diatas hingga diperoleh berat yang konstan. \

$$\% \text{ susut pengeringan} = \frac{(B - A) - (C - A)}{(B - A)} \text{ x } 100\%$$

Keterangan :

A = berat krus kosong setelah dioven

B = berat krus + sebelum sampel dipanaskan

C = berat krus + setelah sampel dipanaskan

3.3.4 Identifikasi Metabolit Sekunder Daun Pandan Wangi (Harborne,1987)

Ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous*Roxb) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan kloroform : air (1:1) 10 ml masing-masing kocok dalam tabung reaksi biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan.

Lapisan air untuk pemeriksaan : flavonoid, fenolik dan saponin.

Lapisan kloroform untuk pemeriksaan : terpenoid, steroid dan alkaloid.

1. Pemeriksaan fenolik

   Lapisan air diambil 1-2 tetes ditambahkan 1-2 tetes $FeCl_3$masukkan dalam tabung reaksi, terbentuk warna biru menunjukkan adanya senyawa fenolik.

2. Pemeriksaan flavonoid

   Ambil 1-2 tetes lapisan air letakkan pada plat tetes ditambahkan logam Mg dan 1-2 tetes HCL pekat. Timbulnya warna orange kemerahan menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3. Pemeriksaan terpenoid dan steroid (Metode Simes)

   Lapisan kloroform 1-2 tetes tambahkan sebagian norit lalu saring, hasil saringan di pipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H_2SO_4 (P)

(pereaksi Lieberman-Bouchard), warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna biru ungu menunjukkan adanya senyawa steroid.

4. Pemeriksaan saponin

   Ambil lapisan air, kocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

5. Pemeriksaan alkaloid (Metode Culvenore – Fristgerald)

   Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes H_2SO_4 2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.3.5 Pembuatan Reagen

A. Penyiapan Larutan Induk Asam Galat (500 µg/ ml) (Waterhouse, 1999)

Sebanyak 12,5 mg asam galat dilarutkan ke dalam 0,5 ml metanol p.a kemudian ditambahkan aquadest sampai volume menjadi 25 ml dalam labu ukur. Konsentrasi larutan yang diperoleh untuk pengukuran 500 μg/ml.

B. Penyediaan Larutan Natrium Karbonat 1M

Ditimbang 10,6 gram natrium karbonat dan tambahkan aquadest dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas, kocok hingga homogen.

C. Larutan induk DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) 35 μg/ml

Ditimbang DPPH sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan metanol p.a di dalam labu ukur 100 ml sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100μg/mL. Dari larutan ini dibuat konsentrasi 35 μg/mL dengan cara dipipet 17,5 mL kemudian masukkan ke dalam labu ukur 50 mL tambahkan metanol sampai tanda batas.

D. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 10 mg dari masing-masing ekstrak pandan dilarutkan dengan 0,5 ml metanol p.a, kemudian ditambahkan aquadest sampai volume menjadi 10 ml labu ukur, sehingga diperoleh larutan induk ekstrak 1000 μg/ml.

3.3.6 Penentuan Kadar Fenolat Total dengan Metode Folin-Ciocalteu

A. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum asam galat dengan Folin-Ciocalteu (Poumorad, 2006)

Larutan induk asam galat di pipet sebanyak 2 ml ke dalam labu ukur 10 ml, lalu encerkan dengan metanol p.a : aquadest (1 : 1) sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 100 μg/ml. Kemudian di pipet 0,5 ml campur dengan pereaksi Folin-Ciocalteu sebanyak 5 ml (diencerkan 1 : 10 aquadest). Kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1M kocok homogen. Biarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan diukur serapan pada panjang gelombang 200 – 800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

B. Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat (Mosquera *et al*, 2006)

Larutan induk asam galat di pipet (0,8; 1,2; 1,6; 2,0; 2,4) ml diencerkan dengan metanol p.a : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasinya 40, 60, 80, 100, 120 μg/ml asam galat. Dari masing-masing konsentrasi larutan di pipet 0,5 ml kemudian di campur dengan 5 ml reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1 : 10 aquadest) tambahkan 4 ml larutan natrium karbohidrat 1M biarkan selama 15 menit, ukur serapannya pada panjang gelombang 200 – 800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

C. Pengukuran Kandungan jumlah Fenolat Total ekstrak sampel dengan metode Folin-Cincalteu (Poumorad, 2006)

Pipet 0,5 ml larutan sampel tambahkan 5 ml pereaksi Folin-Ciocelteu (diencerkan 1 : 10 aquadest), kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1M kocok homogen, biarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan ukur serapan panjang gelombang maksimum 200 – 800 nm dengan spketrofotometer UV-Vis. Dilakukan 3x pengulangan kadar fenolat total.

3.3.7 Penentuan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

A. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH (Mousquera, 2007)

Dipipet sebanyak 4 mL larutan DPPH 35 μg/mL dan tambahkan dengan 2 mL metanol p.a : aquadest (1:1), lalu diamkan selama 30 menit ditempat gelap. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 - 800nm.

B. Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat (Poumorad, 2006)

Dipipet 10 ml larutan induk asam galat (500 μg/ml), kemudian dilarutkan dalam campuran metanol p.a aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, sehingga didapat larutan asam galat dengan konsentrasi 50 μg/ml. Dari larutan ini masing-masingnya dipipet (1; 1,5; 2; 2,5; 3)ml ke dalam labu ukur 50 ml. Tambahkan campuran metanol dan aquadest (1:1) sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi (1,1,5, 2, 2,5, 3) μg/ml.

Dipipet 2 ml masing-masingnya lalu masukkan kedalam vial, tambahkan 4 ml larutan DPPH 35 μg/ml. Diamkan selam 30 menit ditempat yang gelap. Serapan laruan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm. Hitung % inhibisi masing-masingnya seingga diperoleh persamaan regrasi liniernya IC_{50}asam galat adalah konsentrasi larutan

pembanding asam galat yang memberikan inhibisi sebesar 50% yang dapat dihitung dengan menggunakan regresi linier yang diperoleh.

C. Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel (Mosquera, 2007)

Ditimbang masing-masing ekstrak sebanyak 10 mg, kemudian larutkan dalam metanol dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 μg/ml. Dari larutan sampel dipipet (1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3) ml. Kemudian tambahkan metanol p.a : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (100, 150, 200, 250, 300) μg/ml.

1. Modifikasi I

   Dari konsentrasi 1000 μg/mL dipipet (0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2) ml . kemudian tambahkan metanol p.a : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (40, 60, 80, 100, 120) μg/mL. Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 ml larutan sampel dan masukkan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 ml DPPH 35 μg/ml. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 521 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

2. Modifikasi II

   Dari konsentrasi 1000 μg/mL dipipet (0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2) ml . kemudian tambahkan metanol p.a : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (40, 60, 80, 100, 120) μg/mL. Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 ml larutan sampel dan masukkan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 ml

DPPH 35 μg/ml. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 521 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

3. Modifikasi III

   Dari konsentrasi 1000 μg/mL dipipet (0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2) ml . kemudian tambahkan metanol p.a : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (40, 60, 80, 100, 120) μg/mL. Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 ml larutan sampel dan masukkan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 ml DPPH 35 μg/ml. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 521 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

4. Modifikasi IV

   Dari konsentrasi 1000 μg/mL dipipet (0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,4) ml . kemudian tambahkan metanol p.a : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (40, 60, 80, 100, 120) μg/mL. Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 ml larutan sampel dan masukkan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 ml DPPH 35 μg/ml. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 521 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

3.4 Pengolahan Data

1. Kadar fenolat total sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi.

$$y = a + b.x$$

Dimana :

y = Absorban sampel

a = Konstanta

b = Koefisien regresi

x = Konsentrasi sampel (μg/mL)

Kadar fenolat total yang diperoleh dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah dengan program SPSS 16.00.

2. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak sampel dau pandan wangi (Molyneuk, 2004)

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besaran hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH.

a. % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorban\ kontrol - Absorban\ sampel}{Absorban\ kontrol}\ x\ 100\%$$

Dimana :

Absorban kontrol = Serapan larutan radikal DPPH 35 μg/mL pada panjang gelombang maksimum.

Absorban sampel = serapan larutan sampel ditambah larutan DPPH 35 μg/mL dikurangi dengan serapan sampel tanpa DPPH pada panjang gelombang maksimum.

b. Nilai IC

Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear. IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu

menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. Untuk menentukan IC_{50}, diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. IC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% kedalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC_{50}. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneuk, 2004).

BABIV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh modifikasi metode maserasi terhadap kadar fenolat dan aktivitas antioksidan daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifous)*, maka yang didapatkan sebagai berikut :

1. Dari 1 kg sampel segar Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous)* diperoleh 280 gram daun pandan wangi yang kering dan diserbukkan masing-masingnya 50 gram (Lampiran 5, Tabel 1) :

a. Berat ekstrak modifikasi I dengan *magnetic stirrer* selama 2 jam = 6,3640 gram dengan Rendemen = 12,72%.
b. Berat ekstrak modifikasiII dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam pada suhu 40˚C 5,1816 gram dengan Rendemen = 10,36%
c. Berat ekstrak modifikasi III dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit = 5,8682 gram dengan Rendemen = 11,73%
d. Berat ekstrak modifikasiIV dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit pada suhu 40˚C dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40˚C = 5,6969 gram dengan Rendemen = 11,39%

2. Hasil penentuan susut pengeringan masing-masing Modifikasi (Lampiran 5, Tabel 1) :
   a. ModifikasiI dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam = 10,68 %
   b. ModifikasiII dengan pengadukan *magnetic stirrer*selama 2 jam pada suhu 40˚C = 9,3 %
   c. ModifikasiIII dengan pengadukan *magnetic stirrer*selama 1 jam 30 menit dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit = 10,06 %
   d. Modifikasi IV dengan pengadukan *magnetic stirrer*selama 1 jam 30 menit pada suhu 40˚C dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40˚C = 8,06 %
3. Dari hasil pemeriksaan skrining fitokimia sampel ekstrak daun pandan wangi mengandung fenolik, flavonoid, dan alkaloid, sedangkan secara organoleptis berwarna coklat kehitaman, serta memiliki bau khas (Lampiran 5, Tabel 1).

4. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar asam galat direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu menunjukkan panjang gelombang 752nm dengan serapan 0,450 (Lampiran 8).
5. Hasil pengukuran kurva kalibrasi larutan standar asam galat direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu dengan r = 0,9977 dan persamaan regresi y = 0,0496 + 0,0042 x (Lampiran 10, Tabel 2, Gambar 7).
6. Hasil penentuan kadar fenolat total yang dapat ekstrak dari masing-masing sampel Modifikasi(Lampiran 17, Tabel 6).
    a. Modifikasi I dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam = 8,23 %
    b. Modifikasi II dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam pada suhu 40˚C = 5,47 %
    c. Modifikasi III dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit = 6,49 %
    d. Modifikasi IV dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit pada suhu 40˚C dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40˚C = 6,17 %
7. Analisa statistik dengan menggunakan uji ANOVA satu arah dengan program SPSS 16.00 dan dilanjutkan dengan uji Duncam dengan tingkat kepercayaan yang digunakan adalah P<0,05 dimana menunjukkan bahwa teknik maserasi berpengaruh terhadap kadar fenolat total (Lampiran 19, Tabel 7).
8. Hasil pengukuran panjang gelombang larutan DPPH 35 μg/ml menunjukkan panjang gelombang maksimum 521 nm dan serapan sebesar 0,683 (Lampiran 21).

9. Hasil perhitungan IC_{50} larutan asam galat sebagai pembanding pada penentuan aktivitas antioksidan sebesar 1,95μg/ml (Lampiran 23, Tabel 8, Gambar 11).
10. Hasil perhitungan IC_{50} dari masing-masing modifikasi :
    a. ModifikasiI dengan pengadukan *magnetic stirrer*selama 2 jam = 79,15μg/ml (Lampiran 26, Tabel 9).
    b. Modifikasi II dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam pada suhu 40˚C = 73,10μg/ml (Lampiran 28, Tabel 10).
    c. ModifikasiIIIdengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit = 78,95μg/ml (Lampiran 30, Tabel 11).
    d. Modifikasi IX dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit pada suhu 40˚C dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40˚C = 58,44μg/ml (Lampiran 32, Tabel 12).
11. Kesetaraan aktivitas antioksidan masing-masing modifikasi dengan pembanding asam galat (Lampiran 34, Tabel 13).
    a. 1 mg asam galat setara dengan 41,16 mg ekstrak daun pandan wangi dengan modifikasi I.
    b. 1 mg asam galat setara dengan 37,48 mg ekstrak daun pandan wangi dengan modifikasi II.
    c. 1 mg asam galat setara dengan 40,48 mg ekstrak daun pandan wangi dengan modifikasi III.
    d. 1 mg asam galat setara dengan29,96 mg ekstrak daun pandan wangi dengan modifikasi IV.

4.2 Pembahasan

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pandan wangi(*Pandanus amaryllifous* Roxb) sebanyak 1 kg yang diperoleh didaerah Parak Laweh Lubuk Begalung, Kota Padang, Sumatera Barat dan diidentifikasi di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang. Daun pandan wangi yang telah diambil dicuci dengan air, ditiriskan dan dikering angin diruangan yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dari sampel sehingga sampel tahan lama tidak voluminus. Daun pandan wangi kering kemudian dihaluskan dengan blender sehingga menjadi serbuk. Penghalusan atau pengurangan ukuran daun pandan wangi bertujuan untuk memperluaskan kontak permukaan daun pandan wangi dengan pelarut pengekstraksi sehingga pelarut dapat berpenetrasi secara cepat kedalam sampel dan proses ekstraksi lebih optimal.

Daun pandan wangi yang telah diserbukkan dan ditimbang sebanyak 4 x 50 gram. Masing-masing serbuk daun pandan wangi (adalah 50 gram) diekstraksi dengan beberapa cara yaitu modifikasi I dengan pengadukan *magnetik stirrer* selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm, modifikasi II dengan pengadukan *magnetik stirrer* selama 2 jam pada suhu 40^0C dengan kecepatan 500 rmp, modifikasi III dengan pengadukan *magnetik stirrer*selama 1 jam 30 menit dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit dan modifikasi IV dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit pada suhu 40ºC dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40^0C. Modifikasi metode maserasi ini kemungkinan akan menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah cara maserasi atau cara ekstraksi dingin yang memiliki keuntungan yaitu menggunakan peralatan atau botol maserasi sederhana, pelaksanaannya mudah tanpa perlakuan khusus yaitu maserasi didalam erlenmayer dengan pengadukan *magnetic stirrer* selama 2 jam tanpa pemanasan dan dengan pemanasan pada suhu 40^0C, maserasi dengan pengadukan *magnetik stirrer*selama 1 jam 30 menit pada suhu 40^0C dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 30 menit tanpa pemanasan dan dengan pemanasan pada suhu 40^0C.

Pelarut pengekstraksi yang digunakan adalah etanol 70% karena sampel dalam bentuk kering, kandungan air relatif sedikit tujuannya untuk mempermudah membuka pori-pori sampel. Etanol merupakan pelarut universal karena mampu mengekstraksi senyawa non polar dan polar. Etanol juga bersifat tidak toksik sehingga aman digunakan.

Ekstrak daun pandan wangi dari modifikasi I sebesar 6,3640 gram (12,72%), modifikasi II 5,1816 gram (10,36%), modifikasi III 5,8682 gram (11,73%), dan modifikasi IV 5,6969 gram (11,39%). Ekstrak modifikasi II, modifikasi III, dan modifikasi IV kurang kental dibandingkan ekstrak modifikasi I.

Pemeriksaan terhadap ekstrak meliputiorganoleptis, susut pengeringan, dan skrining fitokimia. Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan prinsip menguapkan air dan minyak atsiri yang ada pada bahan dengan jalan pemanasan pada suhu 105^0C kemudian menimbang bahan sampai berat konstan. Pada penelitian ini persentase susut pengeringan daun pandan wangi dengan modifikasi I 10,68%, modifikasi II 9,3%, modifikasi III 10,06% dan modifikasi IV 8,06%.

Susut pengeringan menunjukkan kadar senyawa mudah menguap didalam ekstrak. Dari hasil pengujian modifikasiI memiliki persentasi susut pengeringan lebih besar dibandingkan modifikasi II, modifikasi III dan modifikasi IV zat-zat yang mudah menguap dapat hilang selama proses ekstraksi berlangsung sehingga angka susut pengeringan lebih rendah. Hasil skrining fitokimia untuk ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, fenolik, dan alkaloid (Tabel 1).

Untuk mengetahui pengaruh modifikasi metode maserasi terhadap profil kimia maka dilakukan penentuan kadar senyawa fenolat total. Metode yang digunakan adalah Folin-Ciocalteu, karena merupakan metoda yang sensitif terhadap senyawa fenolat dan menggunakan reagen dalam jumlah sedikit serta dapat bereaksi dalam waktu yang singkat, dengan Reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan natrium karbonat akan membentuk komplek berwarna biru tua sehingga dapat ditentukan absorbannya dengan alat spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 752 nm.

Dari pemeriksaan larutan standar asam galat didapatkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi y = 0,0496 + 0,0042 x dengan panjang gelombang 752 nm dan koefisien korelasinya r = 0,9977. Nilai batas deteksi (BD) = 2,85μg/mL dan batas kuantisasi (BK) = 9,52μg/mL. Batas deteksi adalah jumlah analit terkecil yang dapat diukur secara cermat dan seksama pada alat.

Kadar fenolat total dari ekstrak modifikasi I, modifikasi II, modifikasi III dan modifikasi IV berturut-turut adalah 8,23%, 5,47%, 6,49%, 6,17% . Berdasarkan analisa statiska dengan uji ANOVA satu arah menunjukkan program SPSS 16menunjukkan perbedaan yang signifikasikan p < 0,05 sehingga dapat

disimpulkan bahwa keempat modifikasi maserasi tersebut ada perbedaan yang bermakna. Jumlah kadar fenolat yang berbeda ini membuktikan kandungan fenolat dalam daun pandan wangi dipengaruhi metode ekstraksi.

Untuk metode pengujian aktifitas antioksidan menggunakan metode DPPH karena merupakan metode sederhana, mudah, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel dengan waktu yang relatif singkat. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan mudah teroksidasi karena cahaya dan udara. Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan DPPH yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu violet menjadi kurning karena terjadi donor atom hidrogen dari antioksidan ke DPPH lalu diukur absorbannya pada panjang gelombang 521 nm.

Dari hasil pengukuran aktifitas antioksidan sampel didapatkan panjang gelombang 521 nm dengan absorban . Dari nilai IC_{50} dapat ditentukan konsentrasi senyawa antioksidan yang memberikan inhibisi sebesar 50% yang artinya bahwa pada konsentrasi tersebut antioksidan dapat menghambat radikal bebas sebesar 50%. Sebagai pembanding digunakan larutan asam galat dengan konsentrasi 1; 1,5; 2; 2,5; 3 μg/mL. Setelah absorban diperoleh dapat dihitung persen inhibisi DPPH sehingga diperoleh persamaan regresi y = 15,572 + 17,6 x dengan koefisien korelasinya r = 0,9997. Dari persamaan ini dapat dihitung nilai IC_{50} asam galat yaitu 1,95μg/mL. Aktifitas antioksidan sampel ekstrak daun pandan wangi dengan modifikasi I yaitu79,15μg/mL, modifikasi II yaitu 73,10μg/mL, modifikasi III yaitu 78,95μg/ml dan modifikasi IV yaitu 58,44 μg/mL. Nilai IC_{50} yang lebih kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun pandan wangi dengan modifikasi IV

lebih kecil dibandingkan dengan modifikasi I, modifikasi II dan modifikasi III artinya daun pandan wangi dengan modifikasi IV aktivitas antioksidannya lebih kuat dibandingkan modifikasi I, modifikasi II, dan modifikasi III, tetapi bila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pembanding asam galat dengan IC_{50} 1,95μg/mL ekstrak daun pandan wangi dengan modifikasi IV masih lebih kecil. Berdasarkan kategori nilai IC_{50} yang dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat jika IC_{50} 50-100 ppm, antioksidan sedang jika IC_{50} kurang dari 150 ppm, antioksidan lemah jika nilai IC_{50} 150-200 ppm dan antioksidan sangat lemah jika IC_{50} lebih dari 200 ppm, kekuatan aktivitas antioksidan dari keempat sampel masih dalam katagori kuat.

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa kadar fenolat tidak berhubungan linier dengan aktivitas antioksidan. Kemungkinan hal ini disebabkan bahwa zat yang memberikan efek sebagai antioksidan tidak hanya fenolat saja tetapi mungkin saja senyawa-senyawa lain seperti terpenoid, flavonoid, polifenol (Agnes Chintia, 2016)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan:

1. Kadar fenolat total yang diperoleh dari masing-masing modifikasi maserasi yaitu modifikasi I sebesar 8,23%, modifikasi II sebesar 5,47%, modifikasi III sebesar 6,49%, dan modifikasi IV sebesar 6,17%.Dan aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yaitu modifikasi I 79,15 μg/mL, modifikasi II 73,10 μg/mL, modifikasi III 78,95 μg/mL, dan modifikasi IV 58,44 μg/mL.

2. Modifikasi metode maserasi berpengaruh nyata terhadap kadar fenolat dan nilai aktivitas antioksidan tertinggi pada metode maserasu IV yaitu 58,44 μg/mL.

5.2. Saran

Disarankan kepada penelitian selanjutnya untuk melakukan uji kadar fenolat dan antioksidan terhadap tanamana daun pandan wangi menggunakan pelarut yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

Agustiningsih., Wildan, A., Mindaningsih. 2010. Optimasi Cairan Penyari Pada Pembuatan Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarylligfous* Roxb) Secara Maserasi terhadap Kadar Fenolik dan Flavonoid Total. *Jurnal Momentum* Vol. 6(2) 36 – 41.

Agnes Chintia. 2016. Pengaruh Hidrolisis Asam Terhadap Profil Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Daun Piladang (*Solenostemon scutellariodes*Codd). Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.SKRIPSI. Yayasan Perintis, Padang.

Anonim, 2000.*Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Dirjen POM Depkes RI, Jakarta.

Anonim, 2008. *Herbal Indonesia Berkhasiat Bukti Ilmiah dan Cara Racik*. Vol. 08. PT. Trubus Swadaya, Bogor.

Antolovich, Michael, Paul D. Prenzler, Emilios Patsalides, Suzanne McDonald, KevinRobards. 2002. *Methods for Testing Antioxidant Activity Analyst*. 127: 183 – 193.

Armstrong, N.A., and James, K. C. 1996. *Phamaceutical Experimental Design and Interpretation*. USA : Taylor and Francis.

Cheeptham, N., Towers, G.H.N. 2002. Light-mediated activities of some Thai medicinal plant teas. Fototerapia, 73: 651-662.

Cheetangdee, V and Siree, C. 2006. *Free Amino Acid and Reducing Sugar Composition of Pandan (Pandanus amaryllifolius) Leaves*. Thailand: Departement of Food Science and Technology University of Thailand.

Clifford J,Creswell., 1982.*Analisa Spektrum Senyawa Organik. Edisi III*,Bandung

Dalimartha, Setiawan., 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia.* Jilid 2. Trubus Agriwidya, Jakarta.

Dalimartha, S., 2003.*Atlas Tumbuhan Obat*.Jilid 3. Puspa Swara, Jakarta.

Dalimartha, S., 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Trubus Agriwidya, Anggota IKAPI PT. Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara, Jakarta.

Dachriyanus, 2004.*Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*. Cetakan pertama.Andalas University Press, Padang.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986.*Sediaan Galenik*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Departemen Kesehatan RI, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008.*Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I*, Jakarta.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014.*Farmakope Indonesi. Edisi V*, Jakarta.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989. *Pemanfaatan Tanaman Obat.* EdisiIII. DirektoratJenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989b.*Materia Medika Indonesia*. Jilid Vol. 470 – 472. Badan Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Farouq., 2003. Ekstrak sebagai salah satu pengembangan bentuk obat tradisional. Seminar POKJANAS TOI XXIII. Unversitas Pancasila, Jakarta. Hal. 12.

Fengel, D., dan Wegener, G., 1995. *Kayu Kimia Ultrastruktur dan Reaksi-reaksi*. Walter de Gruyter and Co. Berlin.

Fessenden R.J dan J.S Fessenden., 2003. *Dasar-dasar kimia organik*.Erlangga, Jakarta

Gonzales, M. & Bernando G. 2003. Specthrophotometric Determination of Phenolic Compounds in Propolis. Lat. Am. J.Pharma., 22 (3): 234-8

Harborne, J.B., 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Cetakan Ke- 2*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro, Bandung : ITB

Hardhani, A. S., 2008. *Aktivitas Hipoglikemik Ekstrak Etanolik Daun Salam (Syzyglum Polyanthum (Wight) Walp.) dan Pengaruhnya Terhadap Stimulasi*

Parasimpatik pada Kelinci Jantan Yang Dibebani Glukosa. Artikel Penelitian. Universitas Kedokteran Ponegoro, Semarang.

Hanin, E., Mun'im, A., Mun'im & Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia SP Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. II, No. 3, Desember 2005, 127 – 133.

Kuncahyo, I & Sunardi. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazy (DPPH). Seminar Nasional Teknologi 2007, ISSN : 1978 - 9777

Lee, B.L., Su, J., Ong, S.C. 2004. Monomeric C18 chromatographic method for the liquid chromatographic determination of lipophilic antioxidants plants. J. *Chromatogr*, 1048: 263-276.

Lee, S.A., Hong, S.S., Han, X.H., Hwang, J.S., Oh, G.J., Lee, K.S., Lee, M.K., Hwang, B.Y., and Ro, J.S. 2005. Piperine from the fruits of *Piper longum* with inhibitory effect on monoamine oxidase and antidepressant-like activity. *Chem. Pharm. Bul*, 53: 832-835

Manjang. 2001. Survey dan Profil Fitokimia Tumbuhan Sumbar. Kajian Terpenoid dan Steroid. *Makalah Peningkatan SDM untuk Pemanfaatan SDA Hayati dan Rekayasa Bioteknologi*. FMIPA Unand- Dikti Depdiknas, Padang, 8-9.

Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Bandung : ITB

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. J.Sci.Technol, 26(2), 211–219.

Mosquera, O. M., Yaned, M. C., Diana, C. B., and Jaine, N., 2006. *Antioxidant Activity of Twenty Five Plants From Biodiversity Mem Inst Oswaldo* Cruz 5: 1142- 1145.

Padda, S. M. 2006. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Sweetpotatoes (*Ipomea batatas* (L.) Lam). *Disertasi*. Punjab :Punjab Agrycultural University.

Petmawati. 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) *Jurnal Katalisator*, Vol.2, No.2 : 53 – 60

Pramono, S., 2013. Fluoresensi *Flavonoid di bawah UV 366 nm, Bahan Ajar Analisis Kandungan Kimia Tumbuhan Obat,* Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Praptiwi, Dewi, P & Harapini, M. 2006. Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas Diphenyl Picril Hidrate (DPPH) Ekstrak Metanol Knema Laurina, *Majalah Farmasi Indonesia,* 17 (1), 32-36.

Poumorad, F., Hosseinimehr, N., Shohabimajd. 2006. Antioxidant Activity Phenol and Flavanoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants, *African Journal of Biotechnology,* 11: 1142- 1145

Rahayu, S.E dan Handayani, S. 2008. Keanekaragaman Morfologi dan Anatomi Pandanus (Pandanaceae) di Jawa Barat. Vis Vitalis, I(2): 29-44.

Rohmawati, E.1995. "Skrining Kandungan Kimia Daun Pandan Serta Isolasi dan Identifikasi Alkaloidnya" (tesis). Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.

Rucita. 2016. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolat Total Ekstrak Daun Piladang (Solenostemon scutellarioides (L.) Codd). Jurnal Scientia. Vol.6, No.2 Agustus : 79 -83

Shahidi, F dan M. Narzk. 1995. Food Phenolics. Tecnomicpub. Co. Inc. Lanceser-Basel.

Sidik., dan H. Mudahar., 2000. *Ekstraksi tumbuhan obat, metode dan faktor-faktor yang mempengaruhi mutunya*. Makalah pada seminar sehari Perhipba Komasariat jakarta. Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta 8 hal.

Sibuea, P. 2004. Antioksidan, Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini, Diakses 22 April 2010 dari http : //www.sinarharapan.co.id/iptek/kesehatan/2004/0130/kes2.html

Surh, Y-J. 2003. Cancer Chemopreventive with Diertary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer.* 3: 768-780.

Suhartono, E., Fujiati dan Aflanie, I. (2002.*Oxygen Toxicity by radiation and Effec of Glutamic Piruvat Transamine (GPT) activity rat Plasma After Vitamin C Treatmen*, Diajukan pada Internasional Seminar on Environmental Chemistry and Toxicology, Yogyakarta.

Suryohudoyo, P. 1993. Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas, Surabaya: Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair.

Waterhouse, A. 1999. Folin Ciocalteu Micro Method For Total Phenol in Wine, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28 : 1 – 3

Watson, D.G. 2009.*Analisa Farmasi Edisi 2*, EGC, Jakarta

Winarsi,Hery. 2007.*Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*: Potensi Dan *Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Kanisius, Yogyakarta, Indonesia

Yuniarti, T. 2008.*Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*, Cetakan Pertama, MedPress, Yogyakarta.

Zulfahmi dan B. Solfan. 2010. Eksplorasi Tanaman Obat Potensial di Kabupaten Kampar, *Jurnal Agroteknologi*, Vol.1, No.1 :31 – 38

Lampiran 2. Gambar Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)

Gambar 2. Tumbuhan Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)

Gambar 3. Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)

Lampiran 3. Surat Indentifikasi Tanaman Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)

HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

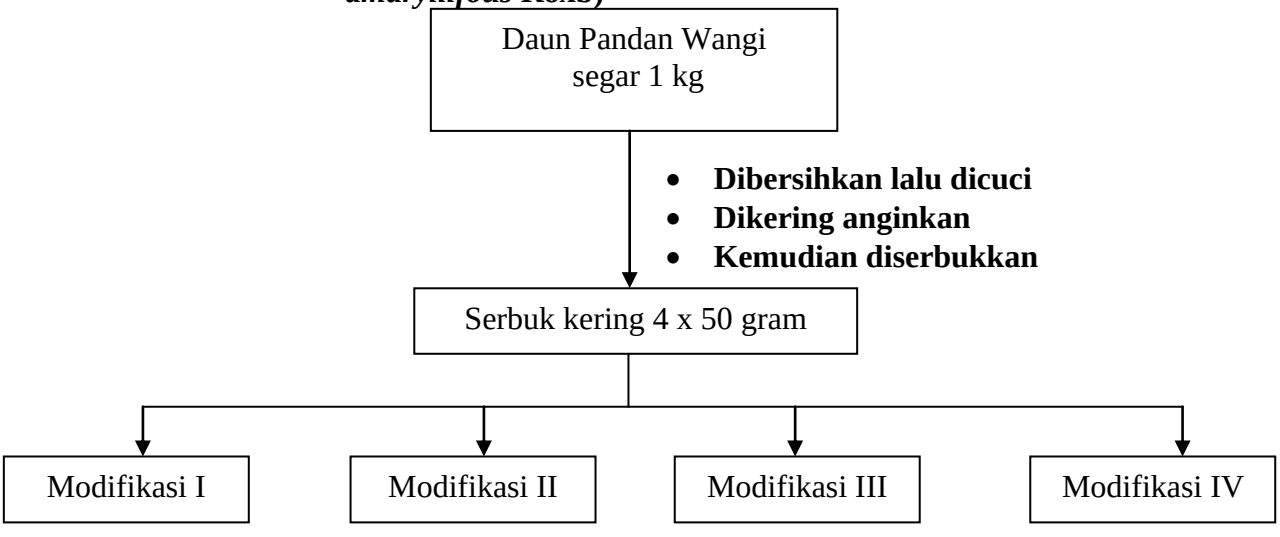
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com; herbariumandaunand@gmail.com

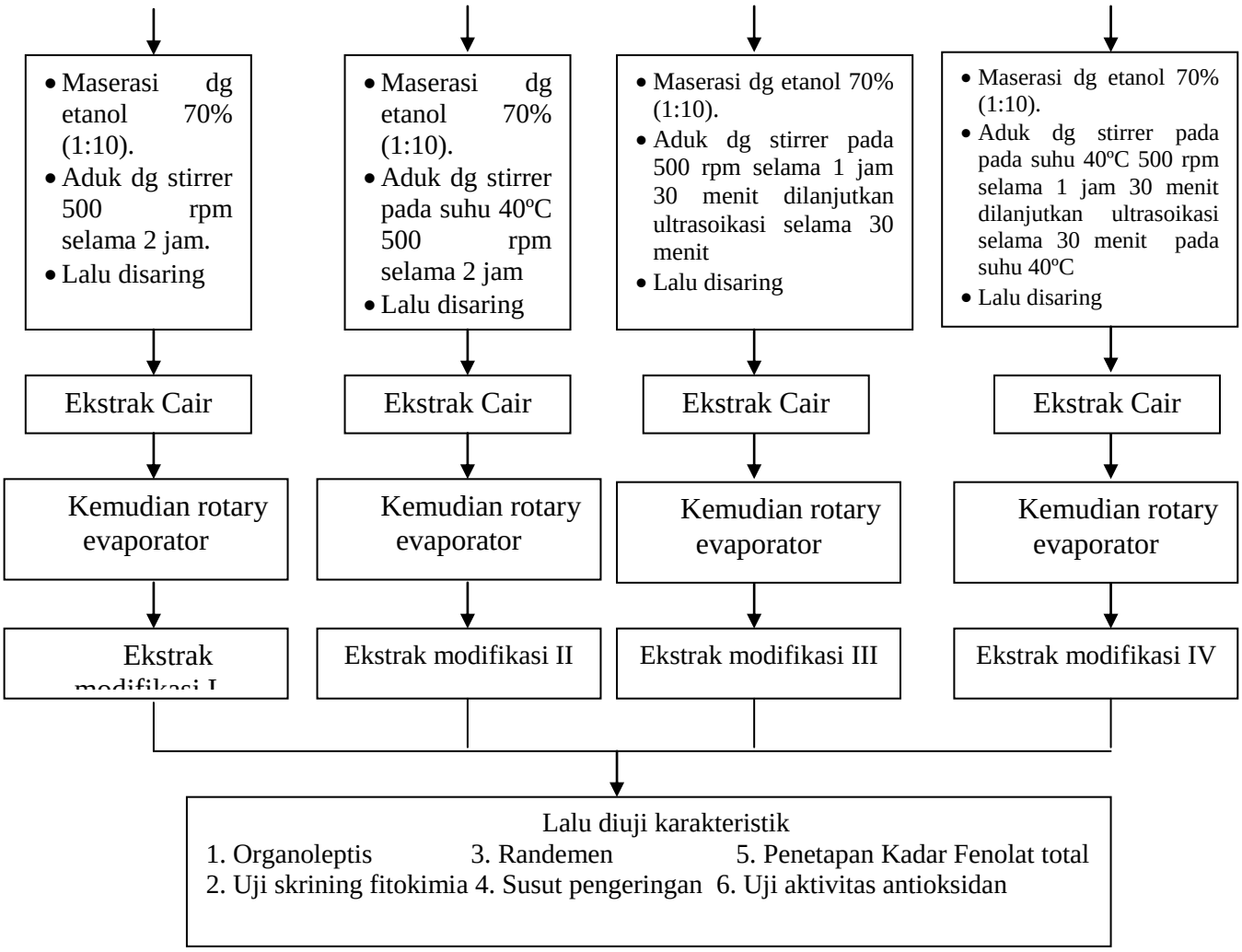
Nomor : 054/K-ID/ANDA/II/2018
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Lovita Wulandari
Di
Padang

Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa atas nama:

Lampiran 4. Skema Kerja Ekstraksi Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)





Gambar 4. Skema Kerja Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous*Roxb)

Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Ekstrak daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb)

No.	Karakter	Sampel			
		Modifikasi I	Modifikasi II	Modifikasi III	Modifikasi IV
1.	Berat ekstrak	6,3640 g	5,1816 g	5,8682 g	5,6969 g
2.	% Randemen	12,72 %	10,36 %	11,73 %	11,39

3.	Organoleptis : - Bentuk - Warna - Bau - Rasa	Ekstrak Kental Coklat kehitaman Khas -	Ekstrak Kental Coklat kehitaman Khas -	Ekstrak Kental Coklat kehitaman Khas -	Ekstrak Kental Coklat kehitaman Khas -
4.	Fitokimia : - Fenolik - Flavonoid - Steroid - Terpenoid - Saponin - Alkaloid	 + + - - - +	 + + - - - +	 + + - - - +	 + + - - - +
5.	Susut pengeringan : - Berat krus kosong - Berat krus sampel sebelum - Berat krus sampel sesudah - % Susut pengeringan	 40,2540 g 41,3587 g 41,2407 10,68 %	 26,6658 g 27,7472 g 27,6462 g 9,3 %	 38,3758 g 39,4486 g 39,3406 g 10,06 %	 38,3700 g 39,4606 g 39,3726 g 8,06 %

Keterangan :
(+) : bereaksi
(-) : tidak bereaksi

Lampiran 6. (Lanjutan)

1. Contoh perhitungan Randemen :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{Berat\ ekstrak\ kental}{Berat\ awal}\ x\ 100\ \%$$

- Modifikasi I =

$$\text{Rendemen} = \frac{6{,}3640\ g}{50\ g} x\ 100\ \% = 12{,}72\%$$

2. Contoh perhitungan Susut pengeringan :

$$\text{\% susut pengeringan} = \frac{[(B-A)-(C-A)]}{(B-A)}\ x\ 100\%$$

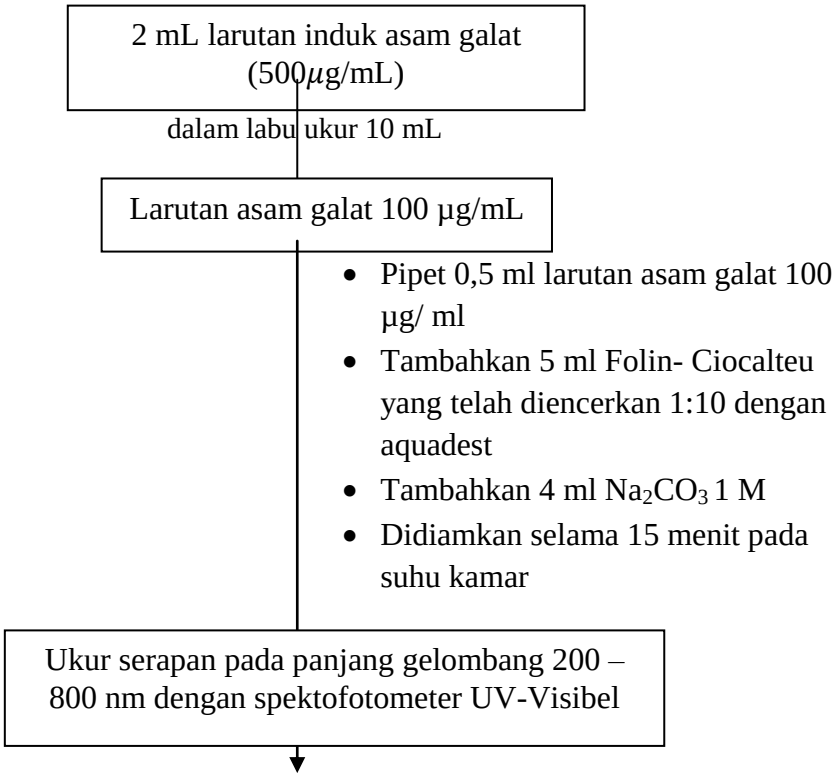
- Modifikasi I =

$$= \frac{[(41{,}3587-40{,}2540)-(41{,}2407-40{,}2540)}{(41{,}3587-40{,}2540)} \text{ x } 100\ \%$$

$$= \frac{(1{,}1047-0{,}9867)}{1{,}1047}\ x\ 100\ \%$$

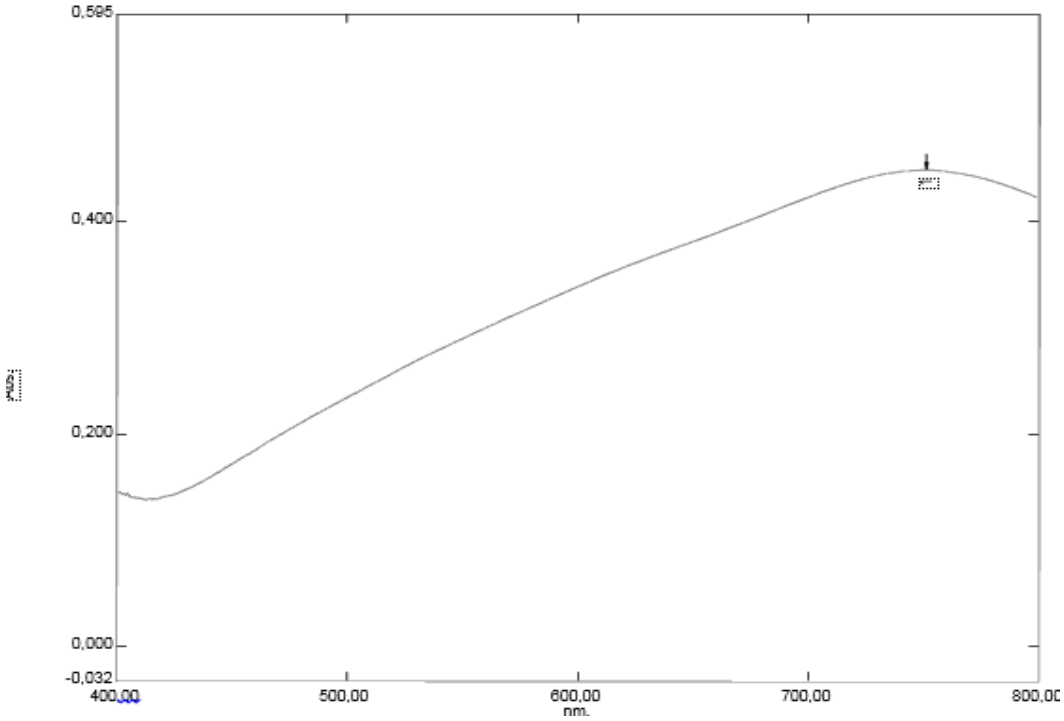
= 10,6%

Lampiran 7. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat Dengan Pereaksi Folin-Ciocalteu



Gambar 5. Skema Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat Dengan Pereaksi Folin-Ciocalteu

Lampiran8. Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel Untuk Pengukuran Kadar Fenolat Total

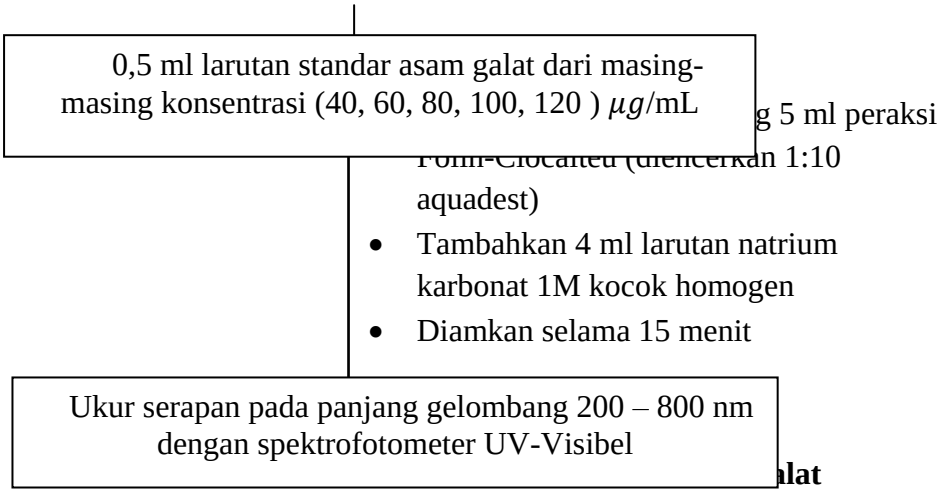


Lampiran 9. Pembuatan kurva kalibrasi Asam galat

Larutan induk asam galat

- Dipipet (0,8; 1,2; 1,6;2,0; 2,4) ml
- Diencerkan dengan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml

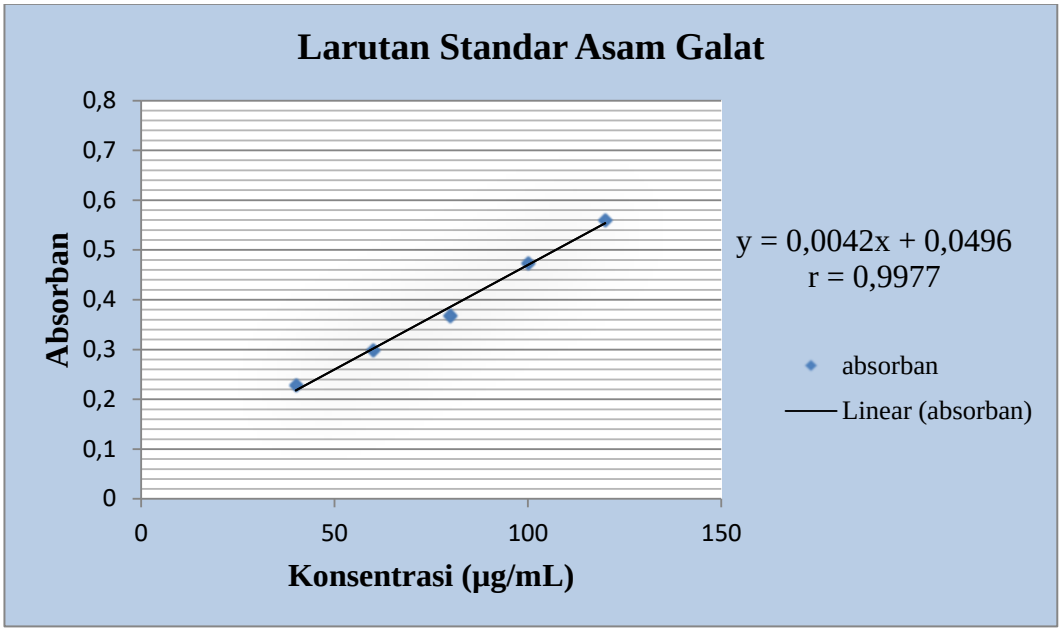
Larutan standar dengan konsentrasi (40, 60,80,100,120) μg/mL



Lampiran10. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

Tabel2. Hasil Pengukuran Absorban Larutan Standar Asam galat Pada Panjang Gelombang 752nm dengan Spektrofotometer UV-Visibel

No.	Konsentrasi (μg/ml)	Absorban
1.	40	0,228
2.	60	0,298
3.	80	0,368
4.	100	0,474
5.	120	0,560



Gambar 7. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

Lampiran 11. Analisi Regresi untuk Penentuan Standar Asam Galat

Tabel3. Hasil Perhitungan Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat pada Panjang Gelombang 740 nm dengan Spektrofotometer UV-Visibel

No.	x	y	x^2	y^2	x.y
1.	40	0,228	1600	0,0519	9,12
2.	60	0,298	3600	0,0888	17,88
3.	80	0,368	6400	0,1354	29,44
4.	100	0,474	10000	0,2246	47,4
5.	120	0,560	14400	0,3136	67,2
∑	∑x = 400	∑y = 1,928	$\sum x^2$ = 36000	$\sum y^2$ = 0,8143	∑x.y = 171,04

Keterangan :

x = Konsentrasi

y = Absorban

Persamaan regresi :

$$y = a + bx$$

Dimana :

x = Kadar

y = Absorban

a & b = Koefisien regresi

Lampiran 12. (Lanjutan)

a. Koefisien Korelasi (r)

$$r = \frac{n.\sum xy - (\sum x . \sum y)}{\sqrt{[(n.\ \sum x^2 - (\sum x)^2\ )(n.\ \sum y^2\ - (\sum y)^2\ )]}}$$

$$= \frac{5.\ 171{,}04 - (\ 400 - 1{,}928)}{\sqrt{[(5.\ 36000 - (400)^2\ .\ (\ 5.\ 0{,}8143 - (1{,}928)^2)]}}$$

$$= \frac{855{,}2 - 771{,}2}{\sqrt{[(180000 - 1000000)(4{,}0715 - 3{,}7171)}}$$

$$= \frac{84}{\sqrt{[(20000\ .\ 0{,}3544}}$$

$$= \frac{84}{\sqrt{7088}}$$

$= \frac{84}{84,19}$

$= 0,9977$

b. Koefisien regrasi (b)

$b = \frac{n.\ \sum xy - \sum x\ .\ \sum y}{n.\ \sum x^2 - (\sum x)^2}$

$= \frac{5.171,04 - 400\ .1,928}{5.\ 36000 - (400)^2}$

$= \frac{855,2 - 771,2}{180000 - 160000}$

$= \frac{84}{20000}$

$= 0,0042$

c. Konstanta (a)

$a = \frac{\sum y - b.\ \sum x}{n}$

$= \frac{1,928 - 0,0042\ .400}{5}$

$= \frac{1,928 - 1,68}{5}$

$= 0,0496$

Jadi persamaan regresi dan kurva kalibrasi adalah

$y = a + bx$

$y = 0,0496 + 0,0042\ x$

L**ampiran 13. Analisis Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi**

Tabel 4. Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

X	y	yi	y-yi	$(y-yi)^{15}$
40	0,228	0,271	0.011	0,00012
60	0.298	0,301	-0,003	0,000009
80	0,368	0,385	-0,017	0,00028
100	0,474	0,469	0,005	0,000025
120	0,560	0,553	0,007	0,000049
∑x = 400	∑y = 1,928	∑yi = 1,925	∑y-yi = 0,003	∑(y-yi) = 0,00048

Persamaa regresi :

y = a + bx

y = 0,0496 + 0,0042 x

Dimana :

y = Absorban

x = Kadar

a.b = Koefisien regresi

Lampiran 14. (Lanjutan)

a. Simpangan Baku (SB)

$$SB = \sqrt{\frac{\sum(y - yi)^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,00048}{5-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,00048}{3}}$$

= 0,004

b. Batas Deteksi (BD)

BD $= \frac{3\ .\ SB}{B}$

$= \frac{3.0{,}004}{0{,}0042}$

= 2,85 μg/ml

c. Batas Kuantisasi (BK)

BK $= \frac{10\ .SB}{B}$

$= \frac{10.0{,}004}{0{,}0042}$

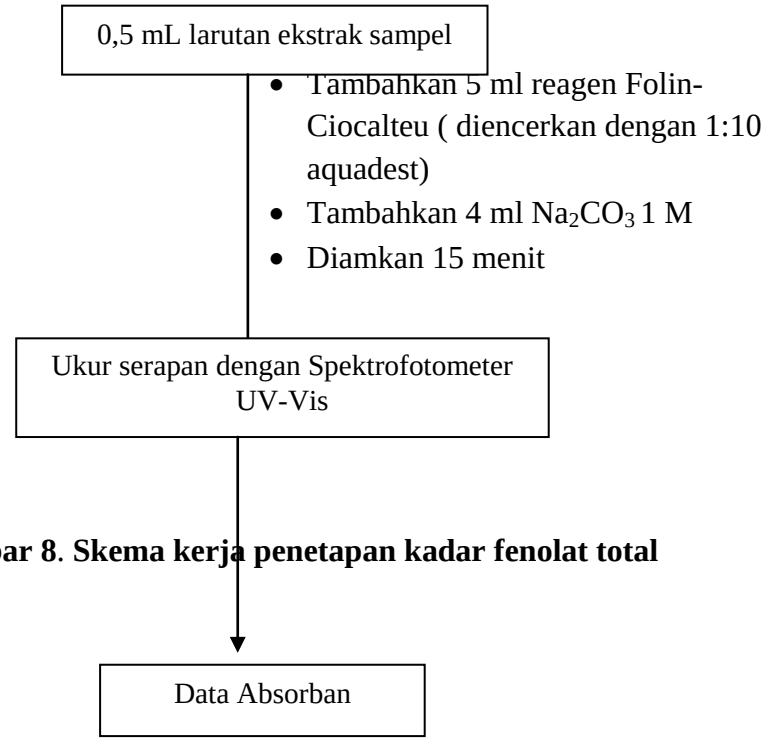
= 9,52 μg/ml

Lampiran 15. Evaluasi Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Pandan Wangi

Tabel5. Hasil Evaluasi Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel

No.	Hasil Evaluasi	Nilai yang diperoleh
1.	Persamaan regresi	y = 0,0496 + 0,0042 x
2.	Batas Deteksi	2,85 μg/ ml
3.	Batas Kuantisasi	9,52 μg/ ml
4.	Koefisien Korelasi	0,9977
5.	Simpangan Baku Relatif	0,004

Lampiran 16. Skema Kerja Penetapan Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Pandan Wangi Masing-masing Modifikasi



Gambar 8. Skema kerja penetapan kadar fenolat total

Lampiran 18. Contoh Perhitungan Kadar Fenolat Total

Contoh perhitungan penetapan kadar senyawa fenolat total yang didapat dalam masing-masing ekstrak daun pandan wangi

1. Modifikasi I

a. Ksf = $\frac{Konsentrasi\ rata{-}rata\ fenolat\ yang\ terukur}{konsentrasi\ ekstrak\ dalam\ larutan}\ x\ 100\ \%$

$= \frac{82{,}39\ {}^{\mu g}/_{mL}}{1000\ {}^{\mu g}/_{mL}}\ x\ 100\%$

= 8,23 %

b.Standar Deviasi (SD)

$SD = \sqrt{\frac{\sum(C - \bar{C})^2}{n-1}}$

$= \sqrt{\frac{0{,}146}{5-1}}$

= 0,19

2. Modifikasi II

a. Ksf = $\frac{Konsentrasi\ rata-rata\ fenolat\ yang\ terukur}{konsentrasi\ ekstrak\ dalam\ larutan}\ x\ 100\ \%$

$= \frac{54{,}77\ \mu g/_{mL}}{1000\ \mu g/_{mL}}\ x\ 100\%$

= 5,47 %

b.Standar Deviasi (SD)

SD = $\sqrt{\frac{\sum(C-\bar{C})^2}{n-1}}$

$= \sqrt{\frac{0{,}037}{5-1}}$

= 0,09

3. Modifikasi III

a. Ksf = $\frac{Konsentrasi\ rata-rata\ fenolat\ yang\ terukur}{konsentrasi\ ekstrak\ dalam\ larutan}\ x\ 100\ \%$

$= \frac{64{,}93\ \mu g/_{mL}}{1000\ \mu g/_{mL}}\ x\ 100\%$

= 6,49 %

b.Standar Deviasi (SD)

SD = $\sqrt{\frac{\sum(C-\bar{C})^2}{n-1}}$

$= \sqrt{\frac{0{,}037}{5-1}}$

= 0,09

4. Modifikasi IV

a. Ksf = $\frac{Konsentrasi\ rata-rata\ fenolat\ yang\ terukur}{konsentrasi\ ekstrak\ dalam\ larutan}\ x\ 100\ \%$

$$= \frac{61{,}76\ {}^{\mu g}/_{mL}}{1000\ {}^{\mu g}/_{mL}}\ x\ 100\%$$

$$= 6{,}17\ \%$$

b.Standar Deviasi (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(C - \bar{C})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{0{,}114}{5-1}}$$

$$= 0{,}16$$

Lampiran 19. Analisis Data Menggunakan Uji Anova Satu Arah

Tabel7. Uji Anova Satu Arah Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Pandan Wangi Masing-masing Modifikasi Ekstraksi

Oneway

Descriptives

Kadar fenolat total

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		

1	3	82.0000	.00000	.00000	82.0000	82.0000	82.00	82.00
2	3	54.0000	.00000	.00000	54.0000	54.0000	54.00	54.00
3	3	64.3333	.57735	.33333	62.8991	65.7676	64.00	65.00
4	3	61.3333	.57735	.33333	59.8991	62.7676	61.00	62.00
Total	12	65.4167	10.74885	3.10293	58.5872	72.2462	54.00	82.00

Test of Homogeneity of Variances

Kadarfenolat total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.667	3	8	.004

ANOVA

Kadarfenolat total

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1269.583	3	423.194	2.539E3	.000
Within Groups	1.333	8	.167		
Total	1270.917	11			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

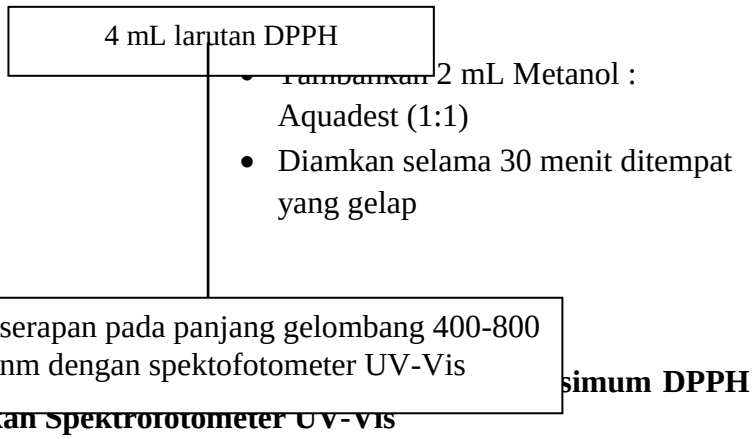
Kadarfenolat total

Duncan

modifikasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2	3	54.0000			
4	3		61.3333		

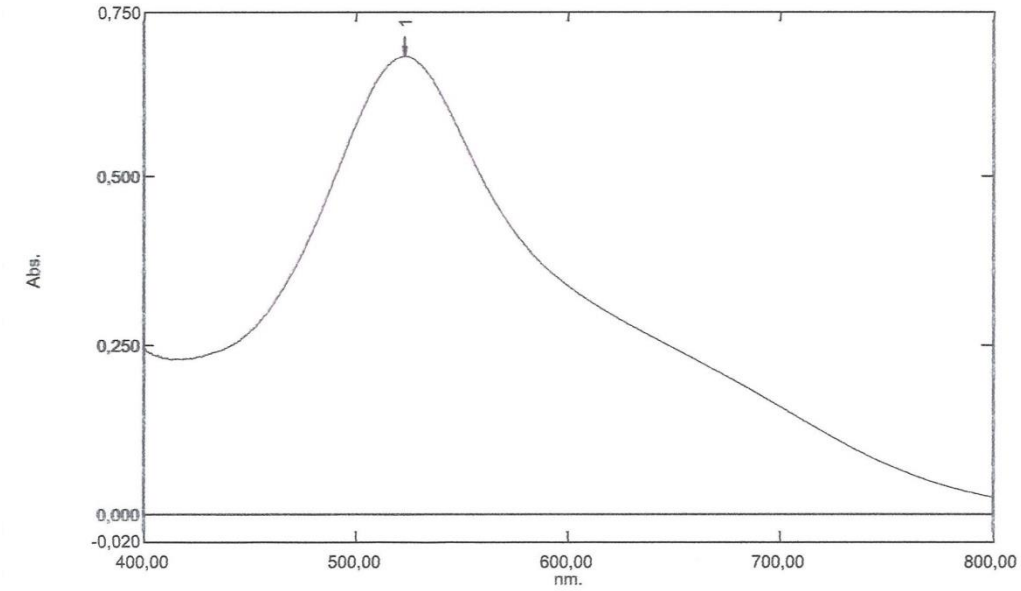
3	3			64.3333	
1	3				82.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Lampiran 20. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH



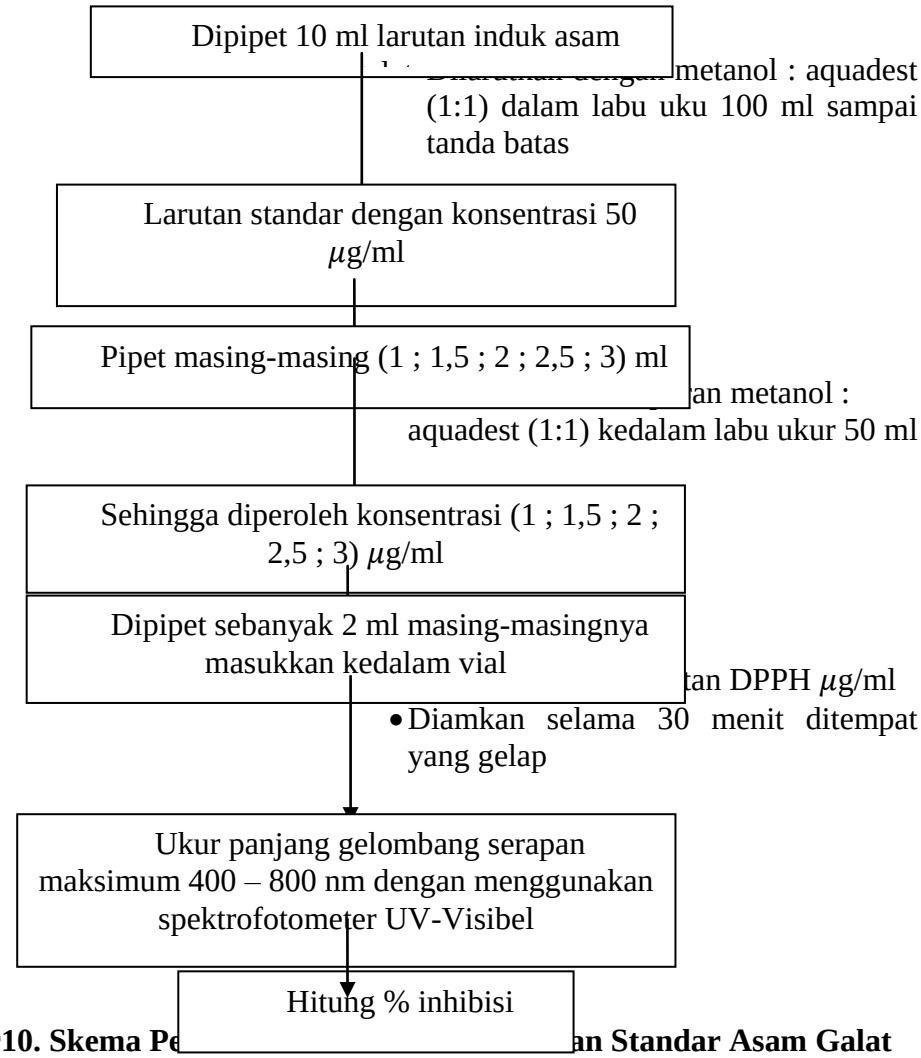
Gambar 9.Sken simum DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 21. Panjang Gelombang Serapan Masimum DPPH Menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1		521,00	0,683	

Lampiran 22. Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat



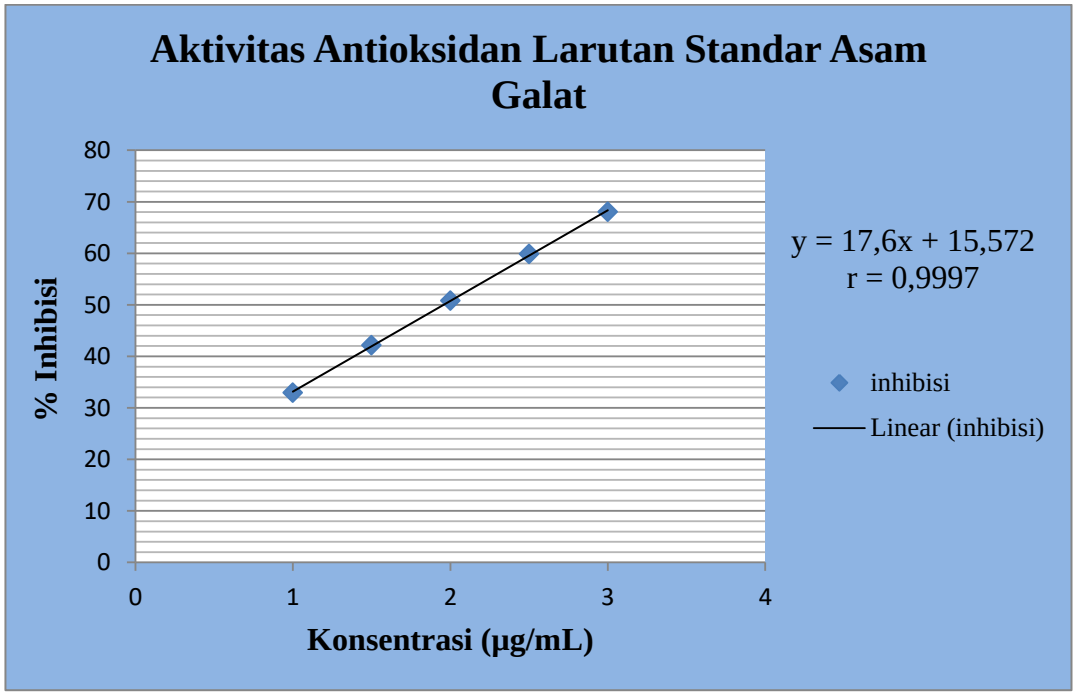
Gambar10. Skema Pe an Standar Asam Galat

Lampiran 23. Aktivitas Antioksidan Larutan Standar Asam Galat

Tabel 8. Hasil Penentuan IC_{50} Larutan Standar Asam Galat

Konsentrasi Asam Galat (μg/ml)	Absorban DPPH	Absorban Asam Galat + DPPH	Absorban Asam Galat Tanpa DPPH	% Inhibisi	IC_{50} (μg/ml)
1		0,459	0,001	32,94	
1,5		0,398	0,003	42,16	

2	0,683	0,340	0,004	50,80	1,95
2,5		0,279	0,005	59,88	
3		0,223	0,005	68,08	



Gambar 11. Kurva Aktivitas Antioksidan Larutan Standar Asam Galat

Lampiran 24. (Lanjutan)

Perhitungan % Inhibisi Larutan Standar Asam Galat

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorban\ kontrol - Absorban\ sampel}{Absorban\ kontrol}\ x\ 100\ \%$$

$$= \frac{0{,}683 - (0{,}459 - 0{,}001)}{0{,}683}\ x\ 100\%$$

$$= 32{,}94\%$$

Contoh perhitungan IC_{50} Larutan Standar Asam Galat :

Dari perhitungan % inhibisi akan diperoleh persamaan regresi dan melalui persamaan regresi ini bisa dihitung konsentrasi larutan standar asam galat yang memberikan inhibisi sebesar 50 %

y = 15,572 + 17,6x

50 = 15,572 + 17,6x

$x = \frac{50 - 15,572}{17,6}$

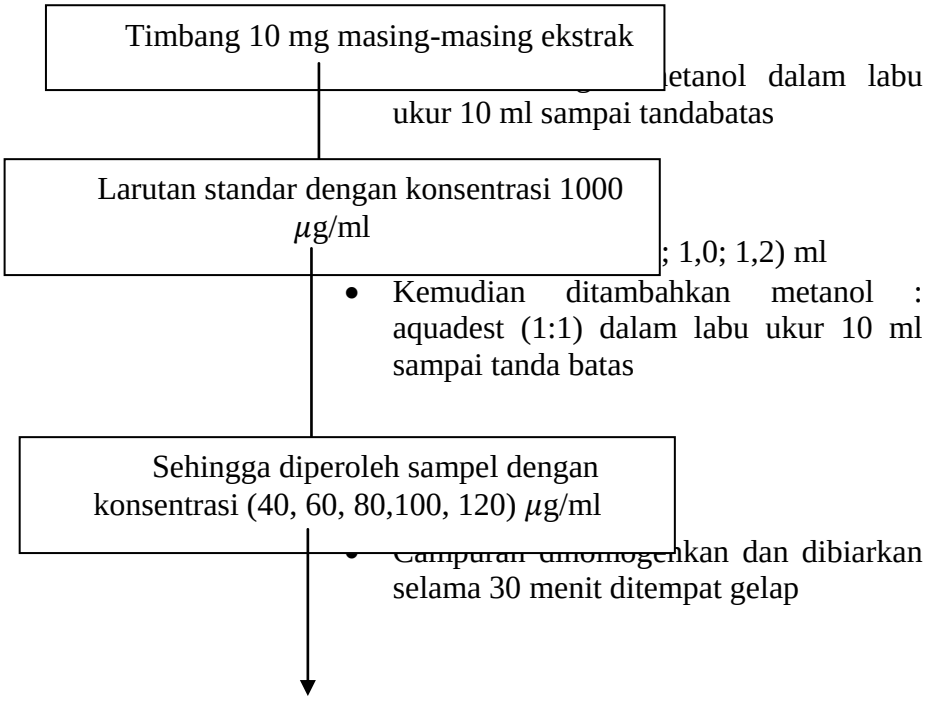
= 1,95 μg/mL

Dimana :

y = Persen Inhibisi

x = Konsentrasi Larutan Standar Asam Galat

Lampiran 25. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak



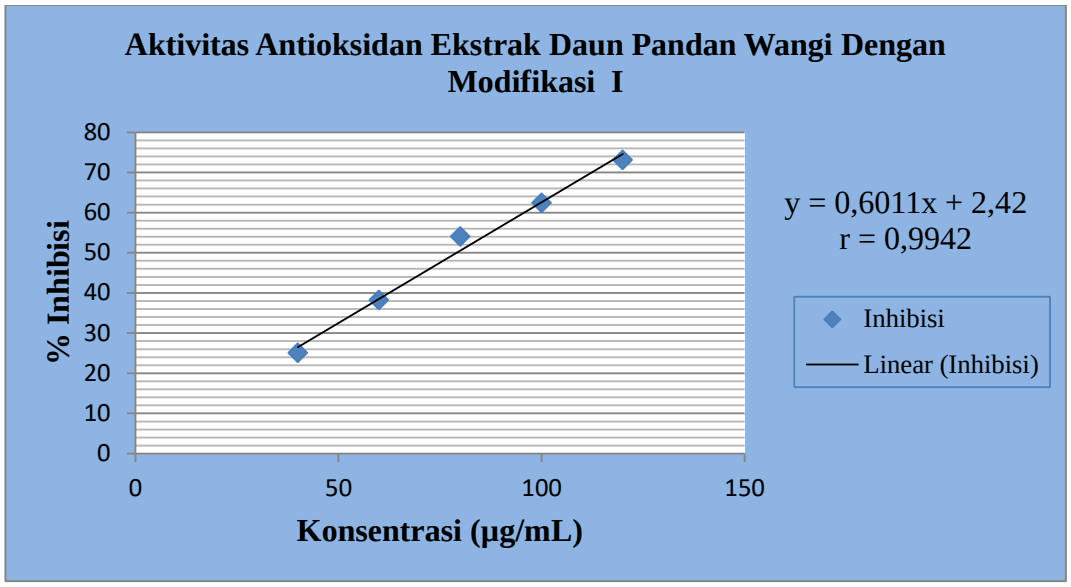
Ukur panjang gelombang serapan maksimum 400 – 800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel

Gamba ampel Ekstrak

Lampiran 26. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi I

Tabel9. Hasil penentuan IC_{50} Larutan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi I

Konsentrasi Sampel (μg/ml)	Absorban	Absorban Sampel + DPPH	Absorban Sampel Tanpa DPPH	% Inhibisi	IC50 (μg/mL)
40	0,683	0,515	0,003	25,03	79,15
60		0,427	0,005	38,21	
80		0,321	0,006	53,87	
100		0,267	0,010	62,37	
120		0,197	0,013	73,06	



Gambar 13. Kurva Aktivitas Antioksidan Sampel Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi I

Lampiran 27. (Lanjutan)

Perhitungan % Inhibisi Larutan Standar Asam Galat

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorban\ kontrol - Absorban\ sampel}{Absorban\ kontrol} \ x\ 100\ \%$$

$$= \frac{0{,}683 - (0{,}515 - 0{,}003)}{0{,}683}\ x\ 100\%$$

$$= 25{,}03\%$$

Contoh perhitungan IC_{50} Larutan Standar Asam Galat :

Dari perhitungan % inhibisi akan diperoleh persamaan regresi dan melalui persamaan regresi ini bisa dihitung konsentrasi larutan standar asam galat yang memberikan inhibisi sebesar 50 %

y = 2,42 + 0,6011 x

50 = 2,42 + 0,6011 x

x $= \frac{50 - 2,42}{0,6011}$

=79,15μg/mL

Dimana :

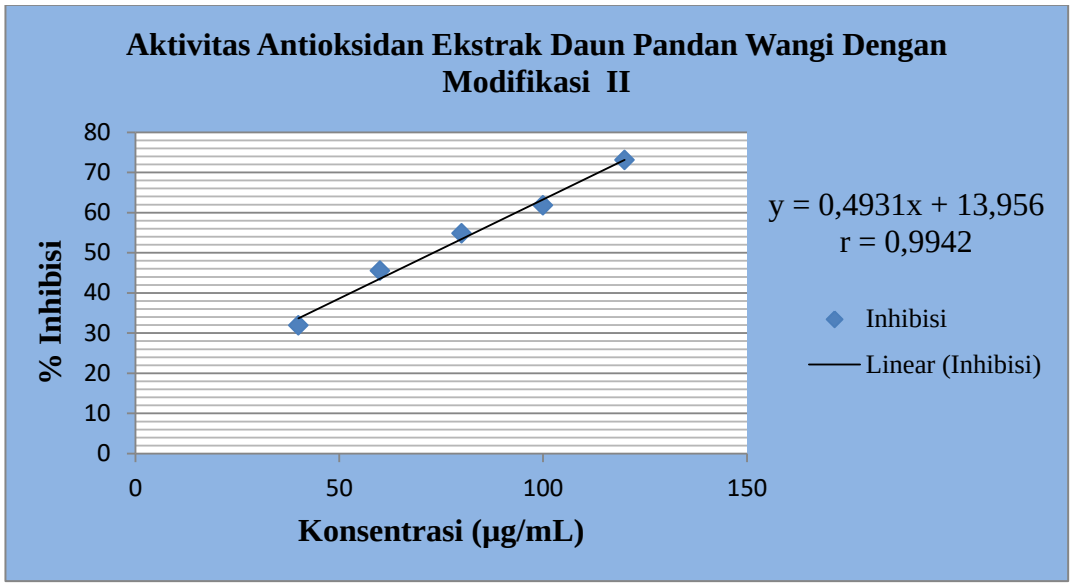
y = Persen Inhibisi

x = Konsentrasi Larutan daun pandan wangi dengan modifikasi I

Lampiran28. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi II

Tabel10. Hasil penentuan IC_{50} Larutan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi II

Konsentrasi Sampel (μg/ml)	Absorban	Absorban Sampel + DPPH	Absorban Sampel Tanpa DPPH	% Inhibisi	IC50 (μg/mL)
40	0,646	0,441	0,001	31,88	73,10
60		0,354	0,002	45,51	
80		0,296	0,004	54,79	
100		0,253	0,006	61,76	
120		0,184	0,010	73,06	



Gambar 14. Kurva Aktivitas Antioksidan Sampel Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi II

Lampiran 29. (Lanjutan)

Perhitungan % Inhibisi Larutan Standar Asam Galat

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorban\ kontrol - Absorban\ sampel}{Absorban\ kontrol}\ x\ 100\ \%$$

$$= \frac{0{,}646 - (0{,}441 - 0{,}001)}{0{,}646}\ x\ 100\%$$

$$= 31{,}88\%$$

Contoh perhitungan IC_{50} Larutan Standar Asam Galat :

Dari perhitungan % inhibisi akan diperoleh persamaan regresi dan melalui persamaan regresi ini bisa dihitung konsentrasi larutan standar asam galat yang memberikan inhibisi sebesar 50 %

y = 13,958 + 0,49305 x

50 = 13,958 + 0,49305 x

x $= \frac{50 - 13{,}958}{0{,}49305}$

= 73,10μg/mL

Dimana :

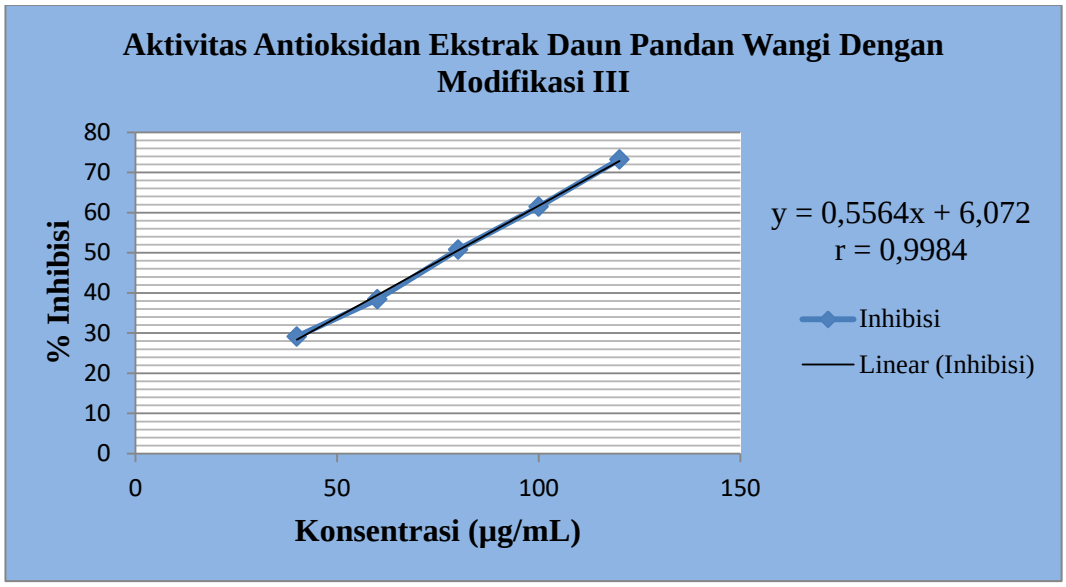
y = Persen Inhibisi

x = Konsentrasi Larutan daun pandan wangi dengan modifikasi II

Lampiran 30. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi III

Tabel11. Hasil penentuan IC_{50} Larutan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi III

Konsentrasi Sampel (μg/ml)	Absorban	Absorban Sampel + DPPH	Absorban Sampel Tanpa DPPH	% Inhibisi	IC50 (μg/mL)
40	0,646	0,468	0,010	29,10	78,95
60		0,416	0,018	38,39	
80		0,339	0,021	50,77	
100		0,274	0,025	61,45	
120		0,210	0,037	73,21	



Gambar 15. Kurva Aktivitas Antioksidan Sampel Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi III

Lampiran 31. (Lanjutan)

Perhitungan % Inhibisi Larutan Standar Asam Galat

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorban\ kontrol - Absorban\ sampel}{Absorban\ kontrol} \ x\ 100\ \%$$

$$= \frac{0{,}646 - (0{,}468 - 0{,}010)}{0{,}646}\ x\ 100\%$$

$$= 29{,}10\%$$

Contoh perhitungan IC50 Larutan Standar Asam Galat :

Dari perhitungan % inhibisi akan diperoleh persamaan regresi dan melalui persamaan regresi ini bisa dihitung konsentrasi larutan standar asam galat yang memberikan inhibisi sebesar 50 %

y = 6,072 +0,5564 x

50 = 6,072 + 0,5564 x

x = $\frac{50 - 6,072}{0,5564}$

= 78,95μg/mL

Dimana :

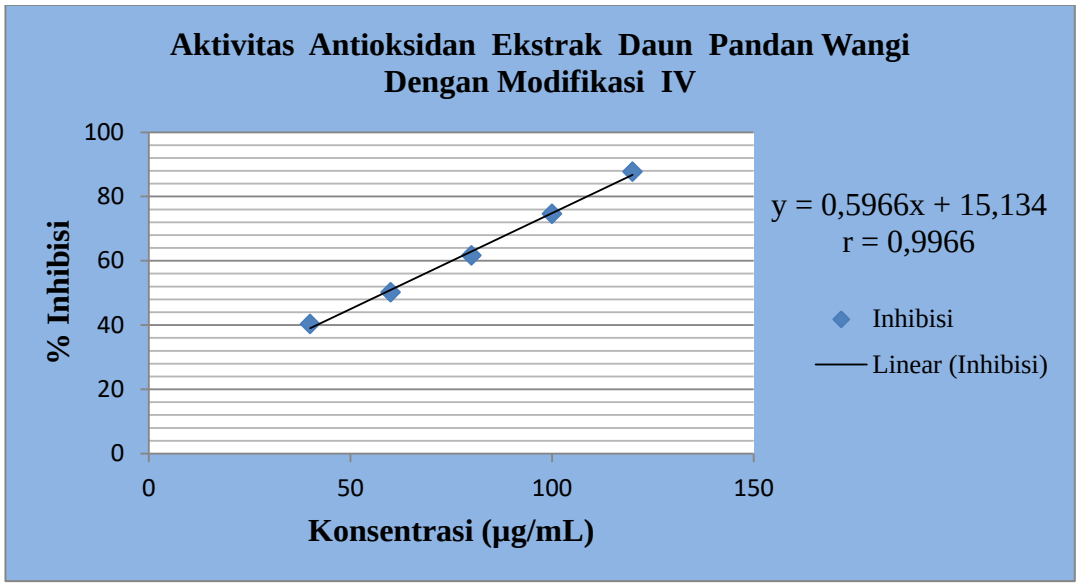
y = Persen Inhibisi

x = Konsentrasi Larutan daun pandan wangi dengan modifikasi III

Lampiran 32. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi IV

Tabel12. Hasil penentuan IC_{50} Larutan Ekstrak Daun Pandan Wangi dengan Modifikasi IV

Konsentrasi Sampel (μg/ml)	Absorban	Absorban Sampel + DPPH	Absorban Sampel Tanpa DPPH	% Inhibisi	IC50 (μg/mL)
40	0,740	0,452	0,010	40,27	58,44
60		0,381	0,012	50,13	
80		0,296	0,012	61,62	
100		0,202	0,014	74,59	
120		0,106	0,015	87,70	



Gambar 16. Kurva Aktivitas Antioksidan Sampel Daun Pandan wangi dengan Modifikasi IV

Lampiran 33. (Lanjutan)

Perhitungan % Inhibisi Larutan Standar Asam Galat

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorban\ kontrol - Absorban\ sampel}{Absorban\ kontrol}\ x\ 100\ \%$$

$$= \frac{0{,}740 - (0{,}452 - 0{,}010)}{0{,}740}\ x\ 100\%$$

$$= 40{,}27\%$$

Contoh perhitungan IC_{50} Larutan Standar Asam Galat :

Dari perhitungan % inhibisi akan diperoleh persamaan regresi dan melalui persamaan regresi ini bisa dihitung konsentrasi larutan standar asam galat yang memberikan inhibisi sebesar 50 %

y = 15,134+ 0,5966 x

50 = 15,134 + 0,5966x

x $= \frac{50 - 15{,}134}{0{,}5966}$

= 58,44μg/mL

Dimana :

y = Persen Inhibisi

x = Konsentrasi Larutan daun pandan wangi dengan modifikasi IV

Lampiran 34. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Masing-Masing Ekstrak Daun Pandan Wangi

Tabel 13. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pandan Wangi Masing-masing Modifikasi

Sampel	IC $_{50}$ $\mu g/mL$	Kesetaraan dengan asam galat (mg)
Modifikasi I	80,27	41,16
Modifikasi II	73,10	37,48
Modifikasi III	78,95	40,48
Modifikasi IV	58,44	29,96
Asam Galat	1,95	1 mg

Perhitungan kesetaraan asam galat

Kesetaraan aktivitas antioksidan masing-masing modifikasi daun pandan wangi dengan pembanding asam galat dapat dicari dengan rumus :
Mg ekstrak daun pandan wangi =

$$\frac{1\ mg\ asam\ galat}{IC_{\ 50}\ asam\ galat}\ x\ IC_{50} ekstrak\ daun\ pandan\ wangi$$

a. mg ekstrak daun pandan wangi dengan menggunakan hotplate dan magnetik stirrer selama 2 jam

$= \frac{1\ mg}{1{,}95\ \frac{\mu g}{mL}}\ x\ 80{,}27\ \frac{\mu g}{mL}$

= 41,16mg

b. mg ekstrak daun pandan wangi dengan menggunakan hotplate dan magenitik stirrer selama 2 jam pada suhu 40˚C

$= \frac{1\ mg}{1{,}95\ \frac{\mu g}{mL}}$ x 73,10 $\frac{\mu g}{mL}$

= 37,48 mg

c. mg ekstrak daun pandan wangi dengan menggunakan hotplate dan magentik stirrer selama 1 jam 30 menit dilanjutkan ultrasonikasi selam 30 menit

$= \frac{1\ mg}{1{,}95\ \frac{\mu g}{mL}}$ x 78,95 $\frac{\mu g}{mL}$

= 40,48 mg

d. mg ekstrak daun pandan wangi dengan menggunakan hotplate dan magentik stirer selama 1 jam 30 menit pada suhu 40˚C dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40˚C

$= \frac{1\ mg}{1{,}95\ \frac{\mu g}{mL}}$ x 58,44$\frac{\mu g}{mL}$

= 29,96mg