PENETAPAN KADAR FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN N-BUTANOL AKAR ALANG-ALANG (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

DRAFT SKRIPSI

Oleh :

WINDI WILDANINGSIH
NIM : 1604044

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2020

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya berupa ilmu, kesehatan, dan kemudahan sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul **"PENETAPAN KADAR FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN N-BUTANOL AKAR ALANG-ALANG (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)"** yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

Selesainya penulisan skripsi ini tidak lepas dari do'a, dukungan, semangat dan kasih sayang dari Ibu/Bapak, saudara dan sahabat. Rasa hormat dan terima kasih yang tulus penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Drs. B.A. Martinus, M.Si, sebagai Dosen Pembimbing I dan bapak apt. Dedi Nofiandi, M.Farm. sebagai Dosen Pembimbing II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah meluangkan waktu untuk memberikan petunjuk, arahan dan nasehat dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak apt. H. Prof. apt. Elfi Sahlan Ben selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia.
3. Ibu Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
4. Ibu apt. Revi Afrianti, M.Si selaku ketua Prodi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
5. Bapak apt. Yahdian Rasyadi, M.Farm selaku pembimbing akademik yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, dukungan, nasehat dan semangat selama penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu dosen Program Studi Universitas Perintis Indonesia yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu selama ini sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan penulisan skripsi ini.

7. Kepala Labor Kimia Farmasi beserta analis dan seluruh pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan disebabkan pengalaman dan kemampuan penulis yang masih terbatas. Akhirnya penulis mengharapkan agar skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Atas segala bantuan yang telah diberikan, penulis mendoakan semoga budi baik bapak dan ibu akan dibalas oleh Allah SWT. Amin Yaa Rabbal Alamin.....

Padang, 22 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR ..... **i**
DAFTAR ISI ..... **iii**
ABSTRAK ..... **v**
ABSTRACT ..... **vi**
DAFTAR TABEL ..... **vii**
DAFTAR GAMBAR ..... **viii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **ix**
BAB I. PENDAHULUAN **1**
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 3
1.3. Tujuan Penelitian 3
1.4. Manfaat Penelitian 3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA **4**
2.1. Tinjauan Botani Tumbuhan Alang-alang 4
2.1.1. Klasifikasi Tumbuhan Alang-alang 4
2.1.2. Nama Daerah Tumbuhan Alang-alang 4
2.1.3. Morfologi Tumbuhan Alang-alang 5
2.2. Kandungan Kimia dan KegunaanTumbuhan Alang-alang 5
2.2.1. Kandungan Kimia Tumbuhan Alang-alang 5
2.2.1. Kegunaan Tumbuhan Alang-alang 6
2.3. Ekstraksi 6
2.3.1. Pengertian Ekstraksi 6
2.3.2. Metode Ekstraksi 7
2.4. Fraksinasi 8
2.5. Senyawa Fenolat 9
2.6. Folin-Ciocalteu 10
2.7. Asam Galat 11
2.8. Radikal Bebas 12
2.9. Antioksidan 13
2.9.1. Metoda DPPH 15
2.10.Spektrofotometri UV-Vis 16
2.10.1. Pengertian 16
2.10.2. Hukum Lambert-Beer 17
2.10.3. Bagian-bagian Spektrofotometer UV-Vis 17
BAB III. METODE PENELITIAN **19**
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian 19
3.2. Alat dan Bahan 19
3.2.1. Alat 19
3.2.1. Bahan 19
3.3. Prosedur Penelitian 20
3.3.1. Pengambilan Sampel 20
3.3.2. Identifikasi Sampel 20
3.3.3. Ekstraksi Sampel Akar Alang-alang 20
3.3.4. Fraksinasi Ekstrak Akar Alang-alang 21
3.3.5. Karakterisasi Fraksi-fraksi Akar Alang-alang. 22

3.3.6. Pembuatan Reagen 24
3.3.7. Penentuan Kadar Fenolat Total dari Fraksi Akar Alang-alang 25
3.3.8. Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH 27
3.4 Analisa Data.....29
3.4.1. Penentuan Kadar Fenolat Total 29
3.4.2. Penentuan Aktivitas Antioksidan 29
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 31
4.1. Hasil 31
4.2 Pembahasan 33
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....41
5.1. Kesimpulan 41
5.2. Saran 41
DAFTAR PUSTAKA 42
LAMPIRAN

ABSTRAK

Tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) merupakan salah satu tanaman dari family poaceae yang biasa digunakan secara tradisional untuk pengobatan berbagai jenis penyakit. Tumbuhan alang-alang banyak mengandung senyawa bioaktif, salah satunya dari kelompok fenolat yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari fraksi-fraksi ekstrak akar alang-alang. Proses fraksinasi dilakukan menggunakan tiga pelarut yang berbeda polaritasnya, yaitu n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan n-butanol (polar). Metoda yang digunakan pada penetapan kadar fenolat total adalah metoda Folin-Ciocalteu, dengan panjang gelombang serapan maksimum asam galat pada konsentrasi 60 µg/mL adalah 755 nm dan absorban 0,345. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metoda DPPH, dengan panjang gelombang serapan maksimum DPPH 35 µg/mL adalah 519 nm dan absorban 0,672 . Hasil penetapan kadar fenolat total pada fraksi n-heksan diperoleh sebesar 1,48% b/b dan memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} = 359,96 µg/mL , kadar fenolat total fraksi etil asetat sebesar 7,65% b/b dan memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} = 215,79 µg/mL, dan kadar fenolat total fraksi n-butanol sebesar 2,86% b/b dan memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} = 258,43 µg/mL. Berdasarkan hasil yang didapat, aktivitas antioksidan dari ketiga fraksi dengan pelarut yang berbeda kepolarannya tergolong lemah (>150 µg/mL).

Kata Kunci : *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch, Fraksinasi, Senyawa Fenolat, Antioksidan, Spektrofotometer UV-Vis

ABSTRACT

Imperata cylindrica (L.) Raeusch) is a plant from the Poaceae family which is traditionally used for the treatment of various types of diseases. Imperata plants contain a lot of bioactive compounds, one of which is from the phenolic group which has the potential as an antioxidant. This study aims to determine the total phenolic content and antioxidant activity of the Imperata cylindrica (L.) Raeusch) root extract fractionation. The fractionation process was carried out using three solvents with different polarity, namely n-hexane (non-polar), ethyl acetate (semi-polar), and n-butanol (polar). The method used in determining total phenolic content was the Folin-Ciocalteu method, with a length The maximum absorption wave of gallic acid at a concentration of 60 µg/mL was 755 nm and an absorbance of 0.345. The antioxidant activity test used the DPPH method, with a maximum absorption wavelength of 35 µg/mL of DPPH was 519 nm and an absorbance of 0.672. The results of determining the total phenolic content in the n-hexane fraction were 1.48% w/w and had antioxidant activity with IC50 = 359.96 µg/mL, the total phenolic content of the ethyl acetate fraction was 7.65% w/w and had activity antioxidant with IC50 = 215.79 µg/mL, and the total phenolic content of the n-butanol fraction of 2.86% w/w and has antioxidant activity with IC50 = 258.43 µg mL. Based on the results obtained, the antioxidant activity of the three fractions with different solvents with different polarity was classified as weak (>150 µg/mL).

Keywords : *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch, Fraksination, Phenolic Cpmpounds, Antioxidant, UV-Vis Spectrophotometer.

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Tingkatan Kekuatan Antioksidan.....15
2. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Fraksi-fraksi Akar Alang-alang.....55
3. Hasil Rendemen Fraksi-fraksi AkarAlang-alang.....56
4. Perhitungan Susut Pengeringan Fraksi-fraksi Akar Alang-alang.....57
5. Hasil Pemeriksaan Fitokimia Fraksi-fraksi Akar Alang-alang.....59
6. Hasil Perhitungan Absorban Larutan Standar Asam Galat.....62
7. Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Larutan Standar Asam Galat.....63
8. Hasil Perhitungan Batas Deteksi (BD) & Batas Kuantisasi (BK) 65
9. Hasil Pengukuran Kadar Fenolat Total Fraksi N-heksan Akar Alang alang 67
10. Hasil Pengukuran Kadar Fenolat Total Fraksi Etil Asetat Akar Alang-alang 69
11. Hasil Pengukuran Kadar Fenolat Total Fraksi N-butanol Akar Alang-alang.....71
12. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Galat 74
13. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan.....76
14. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat 78
15. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi N-butanol.....80
16. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan dengan Pembanding 82

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Reaksi Reagen Folin-Ciocalteu dengan Senyawa Fenol.....11
2. Struktur Asam Galat 11
3. Reaksi DPPH dan Antioksidan 16
4. Seperangkat Alat Spektrofotometer UV-Vis 17
5. Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) 46
6. Akar Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch).....46
7. Surat Identifikasi Tumbuhan Alang-alang.....47
8. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Akar Alang-alang.....48
9. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum As. Galat 49
10. Skema Kerja Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat 50
11. Skema Kerja Penentuan Kadar Fenolat Total Fraksi-fraksi Akar Alang-alang...51
12. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH 52
13. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Galat.....53
14. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Akar Alang-alang...54
15. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat 60
16. Sertifikat Analisis Asam galat 61
17. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat 62
18. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH 73
19. Kurva Kalibrasi Asam Galat.....75
20. Kurva Kalibrasi Fraksi N-heksan Akar Alang-alang.....76
21. Kurva Kalibrasi Fraksi Etil Asetat Akar Alang-alang 78
22. Kurva Kalibrasi Fraksi N-butanol Akar Alang-alang.....80

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Foto Tumbuhan dan Akar Alang-alang 46
2. Surat Identifikasi Tumbuhan Alang-alang.....47
3. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Akar Alang-alang 48
4. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum As. Galat 49
5. Skema Kerja Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat 50
6. Skema Kerja Penentuan Kadar Fenolat Total Fraksi Akar Alang-alang 51
7. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH 52
8. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Galat 53
9. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Akar Alang-alang ...54
10. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Fraksi-fraksi Akar Alang-alang.....55
11. Hasil Rendemen Fraksi-fraksi Akar Alang-alang.....56
12. Hasil Perhitungan Susut Pengeringan Fraksi Akar Alang-alang 57
13. (Lanjutan).....58
14. Hasil Pemeriksaan Fitokimia Fraksi-fraksi Akar Alang-alang.....59
15. Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat 60
16. Sertifikat Analisis Asam Galat.....61
17. Hasil Perhitungan Absorban Larutan Standar Asam Galat.....62
18. Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Larutan Standar Asam Galat.....63
19. (Lanjutan).....64
20. Hasil Perhitungan Batas Deteksi (BD) & Batas Kuantisasi (BK) 65
21. Lanjutan 66
22. Hasil Pengukuran Kadar Fenolat Total Fraksi N-heksan.....67
23. (Lanjutan).....68
24. Hasil Pengukuran Kadar Fenolat Total Fraksi Etil Asetat.....69
25. (lanjutan).....70
26. Hasil Pengukuran Kadar Fenolat Total Fraksi N-butanol.....71
27. (Lanjutan).....72
28. Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH 73
29. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Galat 74
30. (Lanjutan).....75
31. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan.....76
32. (Lanjutan).....77
33. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil asetat 78
34. (Lanjutan).....79
35. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi N-butanol 80
36. (Lanjutan).....81
37. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan dengan Pembanding 82

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tubuh manusia mempunyai banyak cara untuk melakukan proteksi. Dimana kulit merupakan pertahanan pertama yang dimiliki oleh tubuh yang melapisi seluruh permukaan makhluk hidup dan berfungsi melindungi tubuh dari pengaruh luar. Kesehatan manusia maupun penampilan akan terganggu apabila terjadi kerusakan pada kulit, sehingga kulit perlu dirawat, dijaga, dan dilindungi kesehatannya. Salah satu penyebab kerusakan kulit adalah radikal bebas di dalam tubuh (Purwaningsih *dkk*, 2009).

Pengkajian mengenai radikal bebas dan antioksidan termasuk kedalam masalah yang sedang berkembang didalam kehidupan. Radikal bebas merupakan senyawa asing yang memasuki tubuh dan dapat merusak sistem imunitas tubuh. Timbulnya radikal bebas dipicu oleh berbagai proses kimia yang kompleks dalam tubuh, polutan lingkungan, radiasi zat-zat kimia, makanan cepat saji, dan racun (Selawa *dkk*, 2013). Radikal bebas yang berlebih didalam tubuh menyebabkan berbagai penyakit degeneratif (Silalahi, 2006). Oleh sebab itu, dibutuhkan senyawa antioksidan untuk membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas tersebut dan dapat meredam dampak negatifnya (Suhartono, 2002).

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat menetralisir radikal bebas sehingga dengan pemberian antioksidan tersebut dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif (Zuhra *dkk*, 2006).

Salah satu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan ialah senyawa fenolat. Kemampuannya sebagai senyawa biologi aktif memberikan suatu peran yang besar terhadap kepentingan manusia (Ahmad *dkk*, 2015).

Senyawa fenolat banyak ditemukan di dalam tumbuhan, salah satunya ialah tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* L.). Menurut Seniwaty, *dkk* (2009), tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrical* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, steroid, dan terpenoid, yang bermanfaat sebagai antioksidan. Khaerunnisa (2009) juga melaporkan adanya senyawa bioaktif dari akar alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) yang dimanfaatkan sebagai antioksidan. Penelitian lain terkait tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrical* L.) juga dilakukan oleh Dhianawaty & Ruslin (2015) mengenai kandungan total polifenol dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol akar alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch), dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak metanol akar alang-alang mempunyai aktivitas antioksiodan dengan IC_{50} sebesar 0,32 mg/mL. Zhou, *et al* (2013) membuktikan adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak air akar alang-alang dengan reaksi Fenton dan metode reduksi potasium ferisianide untuk menentukan kekuatan reduksinya, yaitu berkurangnya kapasitas ekstrak dalam memangsa radikal bebas. Didapatkan nilai IC_{50} akar alang-alang dalam memangsa OH- sebesar 0.0948 mg/mL. Padma, *et al* tahun 2013 juga membuktikan aktivitas antioksidan ekstrak methanol akar alang-alang pada tiga model yaitu aktivitas pemangsaan terhadap NO, H2O2 dan penentuan aktivitas reduksi dibandingkan dengan asam askorbat. Ekstrak metanol akar alang-alang

mampu memangsa radikal bebas NO sebanding dengan asam askorbat. Menurut Padma, senyawa dalam ekstrak yang berperan sebagai antioksidan adalah fenol dan tannin.

Berdasarkan hal di atas, perlu dilakukan penetapan kadar senyawa fenolat total dan aktivitas antioksidan dari tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) terutama pada bagian akarnya dengan metoda fraksinasi. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dengan menggunakan pelarut yang memiliki polaritas yang berbeda, yaitu dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan n-butanol.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

1. Berapakah kadar fenolat total dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan n-butanol akar alang-alang?
2. Adakah aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan n-butanol akar alang-alang?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kadar fenolat total dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan n-butanol akar alang-alang.
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan n-butanol akar alang-alang.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari fraksinasi ekstrak akar alang-alang.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

Klasifikasi alang-alang yaitu sebagai berikut (Heyne, 1987):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: Imperata
Spesies	: *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch

2.1.2 Nama Daerah

Di tempat lain, tumbuhan ini dikenal dengan berbagai nama, yaitu *Naleueng laku* (Aceh); *Jin* (Gayo); *Rih* (Batak); Laturui (Simalur); Lalang (Melayu); Lioh (Lampung); Oo (Nias); Alalang, hilalang (Minang); Halalang (Daya sampang); Tingen (Ngaju) (Kalimantan); Eurih (Sunda); Langalang, alang-alang, kambengan (Jawa); Kebut lalang (Madura); He (Alafuru), Padang (Mongondow); Padanga (Gorontalo), Padongo (Buol); Deya (Bugis); Reja (Makasar), (Sulawesi); Ambengan (Bali); Re (Sumbawa); Ati ndolo (Bima); Witu,witsyu (Sumba); Kii (Flores), Luo (Solor), (Nusatenggara); Ri (Kai); Weli, weri, wela hutu (Piru), Palate putune (Sapalewa); Ige (Halmahera); Weri (Ulias); Weljo (Kapaur), Ruren (Nufor); Mesofou

(Minasaber), Ukua (Sentani); Mantahoi (Awija); Matawe (Kwime); Urmamu (Mimika); Omasa (Marin), (Maluku) (Arbain *dkk*, 2014).

2.1.3 Morfologi Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) tumbuh tegak dengan tinggi 30 cm hingga mencapai 180 cm, mempunyai rimpang kaku, batang yang padat dan pada bukunya berambut jarang. Panjang daun 180cm dengan lebar 3 cm, berbentuk pita dengan ujung yang tajam , tegak dan kasar serta berambut panjang. Panjang perbungaan 6 - 30 cm, berupa perbungaan mulir majemuk, agak menguncup, pada satu tangkai terdapat dua bulir dengan letak yang tersusun, bunga sempurna terletak diatas dan bunga mandul terletak dibawah, panjang bulir lebih kurang 3 mm, pada pangkal bulir terdapat rambut laus panjang dan padat, berwarna putih. Panjang sekram 4 - 5 mm, ujung sekam berbentuk selaput tipis.Panjang biji 1 mm lebih, berbentuk jorong (Arbain *dkk*, 2014).

2.2 Kandungan Kimia dan Kegunaan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

2.2.1 Kandungan Kimia Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

Tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica*) mengandung senyawa kimia seperti gugusan asam organik, gula, asam amino, pektat, asam giberelat, terpenoid, alkaloid, dan fenolat (Yanti *dkk*, 2016).

Senyawa flavonoid juga terkandung didalam tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch), diantaranya coixol, arundoin, cylindrin, fernenol, simiarenol, anemonin. Flavonoid termasuk dalam polifenol yang merupakan antioksidan (Trisshanti & Susanto, 2016)

Tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) mengeluarkan senyawa alelopat, senyawa yang dikandungnya adalah fenol. Selain mengandung senyawa fenol, unsur hara juga terkandung di dadalam tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) yang biasa digunakan sebagai pemacu pertumbuhan. Senyawa N, P, K, Ca, Mg, dan Si terdapat pada daun, sedangkan senyawa Fe, Mn, Z, Cu terdapat pada bagian rhizome (Isda *dkk*, 2013).

2.2.2 Kegunaan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

Tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) biasa digunakan secara tradisional, seperti untuk menurunkan demam, mengobati batuk, memperlancar air seni, mengurangi rasa mual, sakit kuning, dropsy, hematuria, influenza, pendarahan internal, mimisan, serta penyakit ginjal, dapat dengan menkonsumsi air rebusan akar alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch). Air rebusan akar ini juga dapat digunakan untuk pengobatan diare dan disentri (Arbain *dkk*, 2014).

Polifenol yang terkandung di dalam tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) dapat digunakan sebagai antioksidan. Antioksidan berfungsi untuk mencegah radikal bebas sehingga dapat memeperkecil kerusakan sel tubuh. (Trisshanti & Susanto, 2016)

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Cara ekstraksi yang tepat tergantung pada bahan tumbuhan yang diekstraksi

dan jenis senyawa yang diisolasi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.3.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi dua, yaitu cara dingin dan cara panas.

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Keuntungan cara maserasi ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru hingga terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Tahapan pada proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara Panas

a. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50^{0}C.

c. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98^{0}C) selama waktu tertentu (15-20 menit).Infus pada umumnya digunakan untuk menarik atau mengekstraksi zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati.Hasil dari ekstrak ini menghasilkan zat aktif yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang, sehingga ekstrak yang diperoleh dengan infus tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

d. Dekok/ Dekoktasi

Dekok merupakan infus pada waktu yang lebih lama ≥ 30 menit dan temperatur sampai titik didih air.Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90^{0}C selama 30 menit.Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam air dan konstituen yang stabil terhadap panas.

2.4 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam

pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Harborne, 1987).

Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni. Untuk proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya umumnya digunakan pelarut secara berurutan yaitu dari non polar hingga pelarut polar. Manfaat penggunaan pelarut yang berbeda polaritas adalah untuk menyederhanakan kompleksitas ekstrak. Hal ini sangat memudahkan isolasi zat aktif dari ekstrak. Selain itu, golongan senyawa tertentu mungkin memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut tertentu, yang dapat menyederhanakan kerumitan ekstrak dan membantu proses isolasi (Harborne, 1987).

2.5 Senyawa Fenolat

Senyawa fenolat merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (OH^-) dan gugus lain penyertanya. Senyawa fenolat cenderung larut dalam air karena umumnya seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat didalam vakuola sel (Harborne, 1987).

Fenolat merupakan golongan metabolit sekunder yang distribusinya cukup luas pada tanaman. Golongan fenolat memiliki berbagai aktivitas antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker. Kandungan fenolat dalam tumbuhan berperan sebagai antioksidan alami yang dapat menangkal berbagai oksidan dan radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan (Verawati *dkk*, 2017).

Sifat senyawa fenolat secara sederhana dalam keadaan murni berupa zat padat tidak berwarna, tetapi biasanya mudah teroksidasi dan berwarna gelap bila bereaksi dengan udara. Kelarutan senyawa fenolat dalam air bertambah bila gugus hidroksilnya bertambah banyak. Senyawa fenolat umumnya larut dalam pelarut organik polar (Harbone, 1987).

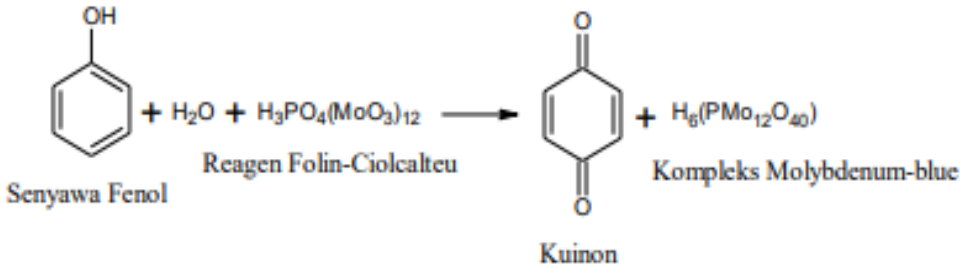
2.6 Folin-Ciocalteu

Metode Folin Ciocalteu adalah salah satu metode penentuan kadar senyawa fenolat yang spesifik. Metode Folin Ciocalteu bekerja dengan cara mengoksidasi senyawa yang membentuk kromogen yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer pada daerah sinar tampak. Keuntungan dari penggunaan metode ini adalah menggunakan jumlah pereaksi yang 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 kompleks.

Prinsip kerja Folin Ciocalteu ini adalah reaksi antara senyawa fenol dengan reagen Folin Ciocalteu. Reaksi ini melibatkan oksidasi gugus fenolik dengan campuran asam fosfotungstat ($H_3PW_{12}O_{40}$) dan asam fosfomolibdat ($H_3PM_{12}O_{40}$) dalam reagen menjadi bentuk kuinon (Harborne, 1987).

Reaksi yang terjadi adalah reaksi reduksi-oksidasi. Senyawa fenolik mereduksi fosfomolibdat - fosfotungstat dalam Folin-Ciocalteu membentuk molybdenum yang berwarna biru.

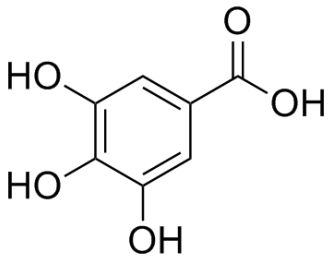
Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa fenol dan reagen Folin-Ciocalteu (Hardiana *dkk*, 2012), yaitu :



Gambar 1. Reaksi Reagen Folin-Ciocalteu dengan Senyawa Fenol

2.7 Asam Galat

Asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat) merupakan senyawa fenolik yang bukan tergolong dalam flavonoid. Gugus fungsi dalam struktur asam galat yang bertanggung jawab memberikan aktivitas antioksidan adalah 3 gugus hidroksil (Lopez *et al*., 2003). Berikut merupakan struktur asam galat :



Gambar 2. Struktur asam galat (Eko, 2003).

Suatu senyawa memiliki kemampuan sebagai antioksidan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jumlah gugus fenol, posisi gugus –OH dalam senyawa, dan keberadaan gugus fungsional lain (Borra et al., 2013). Struktur asam galat memiliki gugus fungsional –OH yang mampu bereaksi dengan radikal bebas sehingga menghindari proses oksidasi lebih lanjut. Menurut Marino et al. (2014), asam galat mampu bereaksi dengan radikal bebas

peroksi dan hidroksiperoksi yang terbentuk dari reaksi oksidasi. Radikal asam galat yang terbentuk distabilkan melalui interaksi dua ikatan hidrogen pada posisi ortho (Badhani et al., 2015)

Asam galat sering digunakan dalam banyak penelitian terkait penetapan kandungan fenolik total sebagai ekivalen terhadap kandungan fenolik total bahan tumbuhan yang diuji (Javanmardi, Stushnoff, Locke, dan Vivanco, 2003). Asam galat digunakan sebagai standar dalam penetapan kandungan fenolik total karena asam galat terbentuk dari 3-dehydroshikimic acid pada jalur sikimat yang melalui seragkaian tahapan reaksi kimia hingga diperoleh asam amino aromatik yaitu L-phenylalanine, L-tyrosine yang merupakan bentuk dari struktur dasar yang ditemukan pada cinamic acid, 15 coumarins, lignans dan flavonoids (Lopez et al., 2003).

2.8 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan sekelompok bahan kimia berupa molekul maupun atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Apabila dua radikal bebas bertemu, akan membentuk ikatan kovalen. Pada dasarnya molekul biologi tidak ada yang bersifat radikal. Apabila molekul non radikal bertemu dengan radikal bebas, maka akan terbentuk suatu molekul radikal yang baru. Dapat dikatakan, radikal bebas bersifat tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul di sekitarnya, sehingga radikal bebas bersifat toksik terhadap molekul biologi/sel. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang terdapat dalam tubuh (Werdhasari, 2014).

Radikal bebas yang mengambil elektron dari DNA dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbullah sel-sel mutan.Bila mutasi ini terjadi berlangsung lama dapat menjadi kanker. Radikal bebas juga berperan dalam proses menua, dimana reaksi inisiasi radikal bebas di mitokondria menyebabkan diproduksinya Reactive Oxygen Species (ROS) yang bersifat reaktif. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain (Werdhasari, 2014).

Tubuh manusia dapat menetralisir radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan.Mekanisme pertahanan tubuh dari radikal bebas adalah berupa antioksidan di tingkat sel, membran, dan ekstra sel (Werdhasari, 2014).

2.9 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) yang memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, akibatnya kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007).

Antioksidan terdapat di dalam tubuh manusia berfungsi sebagai penangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, akan terjadi penyerangan terhadap komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga akan mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif. Sehingga suatu substansi penting sangat diperlukan

oleh tubuh, yakni antioksidan sebagai pelindung tubuh dari serangan radikal bebas dan sebagai peredam dampak negatifnya (Winarsi, 2007).

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu :

1. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).
2. Antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid)

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

1. 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. Coontohnya : tokoferol, flavonoid, dan asam askorbat.
2. Antioksidan Sekunder

   Antioksidan sekunder atau dikenal antioksidan preventif sifatnya menurunkan kecepatan reaksi inisasi melalui berbagai mekanisme, seperti melalui pengikatan ion-ion logam, penangkapan oksigen, penguraian hidroperoksida menjadi produk-produk non radiasi, penyerapan radiasi UV atau deaktivasi 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 (Winarsi, 2007).

Berikut merupakan tingkat kekuatan antioksidan, menurut Maulidha, *dkk* (2015) yaitu :

Tabel I. Tingkat Kekuatan Antioksidan

Intensitas Antioksidan	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 ppm
Kuat	50 – 100 ppm
Sedang	101 – 150 ppm
Lemah	>150 ppm

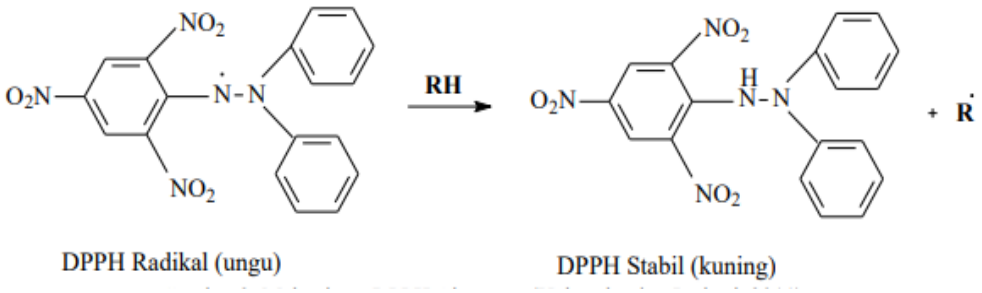
2.9.1 Metode DPPH

DPPH merupakan singkatan umum untuk senyawa kimia organik yaitu 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil. DPPH adalah bubuk kristal berwarna gelap terdiri dari molekul radikal bebas yang satbil. DPPH mempunyai berat molekul 394,32 dengan rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$, larut dalam air. Penyimpanan dalam wadah tertutup baik pada suhu -20°C (Molyneux, 2004). Metode DPPH adalah salah satu uji kuantatif untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan (Talapessy *dkk*, 2013).

Uji aktivitas antioksidan DPPH berdasarkan reaksi penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hidrogen

sehingga akan dihasilkan DPPH-H (bentuk non radikal) dan menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna ungu dari DPPH (Windono *dkk*, 2004).

Berikut merupakan reaksi antara DPPH dan antioksidan :



Gambar 3. Reaksi DPPH dan Antioksidan (Tristantini *dkk*, 2016)

2.10 . Spektrofotometer UV-Vis

2.10.1 Pengertian

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Penggunaan spektrofotometer UV-Vis dalam analisis farmasi adalah untuk analisis kualitatif, walaupun terbatas penggunaannya, serta analisis kuantitatif. Kebanyakan spektrofotometer UV-vis ditunjukkan untuk analisi kuantitatif. Kedua analisis ini memanfaatkan proses penyerapan sinar UV-vis oleh bagian molekul tertentu, seperti kromofor dan auksokrom. Untuk analisis kualitatif, parameter spectrum UV-vis yang digunakan adalah panjang gelombang maksimal dan nilai absorptivitasnya. Sementara untuk analisi kuantitatif, parameter yang bermanfaat adalah nilai serapan atau absorbansinya (Gandjar & Rohman ,2015).

Spektrofotometer UV-VIS adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350nm) dan sinar tampak (350-800nm) oleh suatu

senyawa. Serapan cahaya UV atau VIS (cahaya tampak) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron dari orbital keadan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih rendah.

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis berdasarkan hukum Lambert Beer, bila cahaya monokromatis melalui suatu media, maka sebagian cahaya diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan.

2.10.2 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer (*Beer's law*) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit (Gandjar & Rohman, 2015), yaitu:

$$\mathbf{A = (Io / It) = abc}$$

Keterangan : Io : Intensitas sinar datang

It : Intensitas sinar yang diteruskan

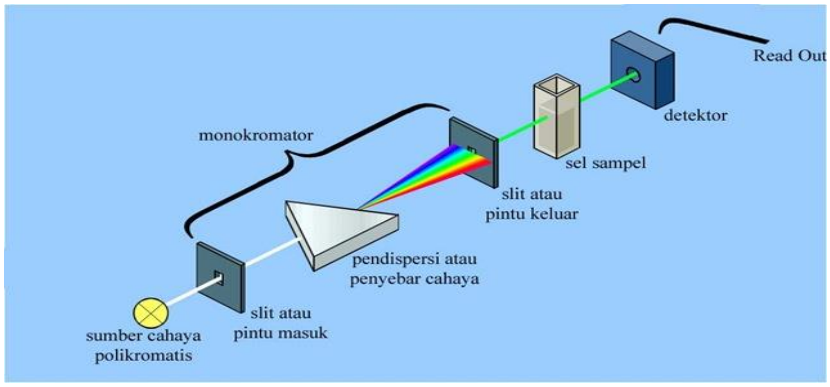
a : Absorptivitas

b : Panjang sel/kuvet

c : Konsentrasi (g/L)

A : Absorban

2.10.3 Bagian-bagian spektrofotometer UV-Visibel (Waston, 2010).



Gambar 4. Seperangkat Alat Spektrofotometer UV-Vis (Watson, 1999)

1. Sumber Cahaya

   Untuk mendapatkan pengukuran absorban yang cocok, sumber cahaya hendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan kontinu dan merata pada panjang gelombang dan stabil selama waktu yang diperlukan.

2. Monokromator

   Digunakan untuk menghamburkan cahaya ke dalam panjang gelombang unsurnya, diseleksi lebih lanjut dengan celah monokromator berotasi sehingga rentang panjang gelombang dilewatkan melalui sampel.

3. Kuvet

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

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. Alat Baca (Rekorder)

   Rekorder adalah suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor.Untuk menganalisa kimia secara spektrofotometri pengaruh berkurangnya intensitas sinar yang disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang disebut blanko.

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di bulan Desember 2019 hingga Juli 2020 di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang, Kota Padang, Sumatera Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat *rotary evaporator* BUCHI Rotavapor R-200, Spektrofotometer UV-VIS T92+, corong pisah, corong, gelas ukur, sudip, spatel, pipet tetes, erlenmeyer, labu ukur, botol berwarna gelap, beaker glass, kaca arloji, vial, tabung reaksi, krus porselen, oven, aluminium foil, timbangan analitik, plat tetes, cawan penguap, blender, botol, kapas, botol semprot, dan pipet volume.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah akar tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch), etanol 96% T (Merck®), etanol 70% T (Merck®), reagen Folin-Ciocalteu p.a (Merck®)aquadest (Merck®), DPPH p.a(Merck®), asam galat p.a (Merck®), methanol p.a (Merck®), n-heksan T (Merck®), etil asetatT (Merck®), n-butanol T (Merck®).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah akar tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) sebanyak 2 kg. Pengambilan dan pengumpulan sampel dilakukan di Ketapiang, Padang, Sumatera Barat.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi tanaman dilakukan untuk memastikan jenis tanaman yang digunakan untuk penelitian. Identifikasi dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas Padang.

3.3.3 Ekstraksi Sampel Akar Alang-alang

a. Preparasi Akar Alang-alang

Pengambilan sampel tumbuhan alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) dilakukan dengan cara mengambil akar yang masih segar. Kemudian dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan menggunakan air yang mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa sinar matahari selama 10 hari. Setelah kering sampel diblender. Sampel ditimbang, didapat 750 g dan diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%, maserasi dilakukan 3 hari sambil sesekali diaduk, kemudian maserat disaring dan disimpan di tempat gelap. Proses Pengulangan maserasi selanjutnya menggunakan etanol 96%, masserasi dilakukan sampai filtrat terlihat bening atau tidak berwarna lagi. Kemudian filtrat yang telah disaring disatukan dan

dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-40ºC sehingga menghasilkan ekstrak total pekat (Harborne, 1987).

b. Penentuan Rendemen Ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Timbang akar alang-alang, kemudian hasil ekstraksi yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung rendemen dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel kering}} \text{ x } 100\ \%$$

3.3.4 Fraksinasi Ekstrak Akar Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

Ekstrak etanol akar tumbuhan alang-alang sebanyak 20 gram difraksinasi dengan n-heksan dan air dengan perbandingan (1:1) sebanyak 200 ml dalam corong pisah, dikocok secukupnya, biarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan n-heksan terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi n-heksan.

Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat (100 mL) dalam corong pisah, dikocok secukupnya, biarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan etil asetat dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan etil asetat terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi etil asetat.

Lalu lapisan air difraksinasi lagi dengan n-butanol (100 mL) dalam corong pisah, dikocok secukupnya, biarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-butanol dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan n-butanol terlihat jernih sehingga diperoleh

fraksi n-butanol. Selanjutnya fraksi-fraksi diuapkan dengan *rotary evaporator* (Aria, 2015).

3.3.5 Karakterisasi Fraksi-fraksi Akar Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) (Departemen Kesehatan RI, 2011).

Masing-masing fraksi dilakukan karakterisasi dengan parameter sebagai berikut :

a. Pemeriksaan Organoleptis

Untuk mengetahui karakteristik ekstrak sampel, identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan melalui panca indra meliputi bentuk, warna dan bau.

b. Penentuan Rendemen

Timbang akar tumbuhan alang-alang kemudian hasil ekstraksi yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung rendemen dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel kering}} \text{ x } 100\ \%$$

c. Pemeriksaan Susut Pengeringan

Keringkan krus porselen dan tutupnya di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan dibiarkan dingin, lalu ditimbang beratnya. Masukkan ekstrak ke dalam krus tersebut hingga beratnya 1 gram diluar berat krus dengan penutup yang telah diketahui sebelumnya. Dengan perlahan goyang krus agar ekstrak merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam oven. Krus yang telah berisi ekstrak dipanaskan dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam.Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam

desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

Berikut merupakan rumus perhitungan % susut pengeringan :

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

Keterangan: A= Berat krus kosong

B= Berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C= Berat krus + sampel setelah dipanaskan.

d. Identifikasi Metabolit Sekunder dari Fraksi Akar Alang-alang (Harborne, 1987).

Timbang masing-masing fraksi sebanyak 0,5 gram, dilanjutkan dengan penambahan kloroform : aquadest (1 : 1) 10 ml masing-masing dikocok dalam tabung reaksi biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan.

Lapisan air untuk pemeriksaan : flavonoid, fenolat, dan saponin

Lapisan kloroform untuk pemeriksaan : terpenoid, steroid, dan alkaloid

1. Uji Fenolik

Letakkan 1 – 2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan 1 – 2 tetes pereaksi $FeCl_3$ 5%, terbentuknya warna biru menunjukkan adanya senyawa fenolik.

2. Uji Flavonoid

Ambil 1-2 tetes lapisan air letakkan pada plat tetes, kemudian tambahkan logam Mg dan 1 – 2 tetes HCl pekat. Timbulnya warna orange kemerahan menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3. **Uji Saponin**

Lapisan air dikocok kuat dalam tabung reaksi hingga terbentuk busa yang tidak hilang selama ±15 menit, ini menunjukkan adanya saponin.

4. **Uji Terpenoid dan Steroid**

Lapisan Kloroform diambil 1-2 tetes lalu disaring dengan norit aktif. Hasil saringan diteteskan pada plat tetes. Biarkan kering lalu tambahkan asam asetat anhidrat dengan H_2SO_4 2N, warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna biru ungu menunjukkan adanya senyawa steroid.

5. **Uji Alkaloid (Metode Culvenore – Fristgerald)**

Ambil 1 ml lapisan kloroform ditambahkan 1 ml kloroform amoniak 0,05 N dan 1 ml asam sulfat 2 N, kemudian kocok perlahan dan biarkan memisah. Lapisan asam dipipet dan dipindahkan kedalam tabung reaksi lain kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.3.6 Pembuatan Reagen

a. Pembuatan Larutan Natrium Karbonat 1 M (Waterhouse, 1999)

Sebanyak 10,6 g natrium karbonat dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, kocok hingga homogen.

b. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (500 µg/mL) (Alfian, 2013)

Sebanyak 12,5 mg asam galat masukkan kedalam labu ukur 25 ml dilarutkan dengan 0,5 ml metanol kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 500 µg/ml.

c. Pembuatan Larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 35 µg/ml (Molyneux, 2004)

Timbang 10 mg DPPH masukkan dalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan etanol sampai tanda batas. Kemudian pipet 17,5 ml larutan DPPH masukkan dalam labu ukur 50 ml, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan konsentrasi 35 µg/ml.

3.3.7 Penentuan Kadar Fenolat Total dari Fraksi Akar Alang-alang

a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat (Patria & Soegihardjo, 2013).

Larutan induk asam galat di pipet sebanyak 1,2 ml ke dalam labu ukur 10 ml lalu encerkan dengan metanol : aquadest (1 : 1) sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 60 µg/ml. Kemudian di pipet 0,5 ml campur dengan pereksi Folin-Ciocalteu sebanyak 5 ml (diencerkan 1 : 10 aquadest). Kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1 M kocok homogen.Biarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan diukur panjang gelombang serapan maksimum dari asam galat dengan Spektrofotometer UV-Vis.

b. Penentuan Kurva Kalibrasi Larutan Asam Galat

Larutan induk asam galat di pipet sebanyak (0,8; 1,2; 1,6; 2,0; 2,4) ml diencerkan dengan metanol : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas sehingga di peroleh konsentrasinya 40, 60, 80, 100,

120 μg/ml asam galat. Dari masing-masing larutan dipipet 0,5 ml kemudian di campur dengan 5 ml reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1 : 10 aquadest) tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1 M biarkan selama 15 menit, ukur serapannya pada panjang gelombang maksimum (Zulharmita *dkk*, 2010).

c. Batas Deteksi (Limit of Detection, LOD) dan Batas Kuantitasi (Limit of Quantitation, LOQ)

Setelah diukur absorbannya kemudian dihitung nilai Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK). Pada uji BD dan BK dilakukan secara statistic melalui persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi, dimana respon instrument berhubungan linier dengan konsentrasi. Berikut adalah rumus mencari BD dan BK, yaitu :

$$\text{BD} = \frac{3\ x\ SB}{b}$$

$$\text{BK} = \frac{10\ x\ SB}{b}$$

Keterangan : SB = Simpangan Baku

b = Slope

d. Penetapan Kadar Fenolat Total dengan Metoda Folin-ciocalteu *(*Pourmorad *et al*., 2006).

Fraksi n-heksan ditimbang 0,0758 g larutkan dengan metanol kedalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas, diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 3000 μg/mL.

Fraksi etil asetat ditimbang 0,0254 g larutkan dengan metanol kedalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas, diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 1000 μg/mL.

Fraksi n-butanol ditimbang 0,0510 g larutkan dengan metanol kedalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas, diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 2000 μg/mL.

Pipet 0,5 ml masing-masing larutan uji tambahkan 5 ml pereaksi Folin-Ciocalteu (diencerkan 1 : 10 aquadest), kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1 M, kocok homogen, diamkan selama 15 menit dan ukur serapan panjang gelombang serapan maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.8 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH (Zulharmita *dkk*, 2010)

Sebanyak 4 ml larutan DPPH 35 ppm dipipet kemudian ditambahkan 2 ml campuran metanol dan aquadest (1:1), larutan dihomogenkan dan didiamkan 30 menit di tempat yang gelap. Ukur panjang gelombang serapan maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis.

b. Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat

Dipipet 10 ml larutan induk asam galat (500 μg/mL), kemudian dilarutkan dalam campuran metanol dan aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan asam galat dengan konsentrasi 50 μg/mL. Dari larutan ini masing-masing dipipet (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1) ml masukkan dalam labu ukur 10 ml, tambahkan campuran metanol dan aquadest (1 : 1) sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi (1, 2, 3, 4, 5) μg/mL.

Dipipet masing-masing larutan sebanyak 2 mL lalu masukkan kedalam vial, tambahkan 4 ml larutan DPPH 35 μg/mL. Diamkan selama

30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hitung % inhibisi masing-masingnya sehingga diperoleh persamaan regresi liniernya. IC_{50} asam galat adalah konsentrasi larutan pembanding yang memberikan inhibisi sebesar 50 % yang dapat dihitung dengan menggunakan regresi linier yang diperoleh (Verawati, 2017).

c. Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi-fraksi Akar Alang-alang

Ditimbang masing-masing 25 mg fraksi n-heksan, etil asetat, dan n-butanol, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Larutan uji sampel fraksi n-heksan dipipet 1; 2 ;3 ; 4 ; dan 5 mL kemudian lakukan pengenceran dengan menambahkan metanol : aquadest (1:1) sampai volume 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100; 200, 300, 400, dan 500 µg/mL. Masing masing deret konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL dan masukan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 mL larutan DPPH 35 µg/mL. Campuran di homogenkan dan biarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Zulharmita, 2010)

Larutan uji sampel fraksi etil asetat dipipet 0,4; 1 ; 1,6 ; 2,2 ; dan 2,8 mL kemudian lakukan pengenceran dengan menambahkan metanol : aquadest (1:1) sampai volume 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 40; 100, 160, 220, dan 280 µg/mL. Masing masing deret konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL dan masukan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 mL larutan DPPH 35 µg/mL. Campuran di homogenkan dan biarkan selama

30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Zulharmita, 2010)

Larutan uji sampel fraksi n-butanol dipipet 0,4; 1 ; 1,6 ; 2,2 ; dan 2,8 mL kemudian lakukan pengenceran dengan menambahkan metanol : aquadest (1:1) sampai volume 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 40; 100, 160, 220, dan 280 µg/mL. Masing masing deret konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL dan masukan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 mL larutan DPPH 35 µg/mL. Campuran di homogenkan dan biarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Zulharmita, 2010)

3.4 Analisa Data

3.4.1 Penentuan Kadar Fenolat Total

Kadar fenolat total dalam sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier y = bx + a dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar yang diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standar.

$$\text{Kadar Fenolat Total} = \frac{C\ x\ V\ x\ FP}{\text{Bs}}$$

Keterangan : C = Konsentrasi larutan sampel(µg/mL)

V = Volume larutan sampel (mL)

FP = Faktor pengenceran

Bs = Berat sampel

3.4.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Akar Alang-alang

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

a. % Inhibisi

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

Keterangan :

Absorban Kontrol : Serapan larutan radikal DPPH 35 μg/ml

Absorban Sampel : Serapan larutan sampel dalam larutan DPPH 35 μg/mL.

b. Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier.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.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Sampel tanamanan di identifikasi sebagai (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) yang merupakan famili Poaceae dengan nomor identifikasi 487/K-ID/ANDA/XII/2019 (Lampiran 2, Gambar 7).
2. Dari 2 kg Akar alang-alang segar, didapatkan simplisia sebanyak 750 g, kemudian diperoleh ekstrak kental sebanyak 207,27 g, rendemen : (27,63%) (Lampiran 11, Tabel III).
3. Karakterisasi fraksi-fraksi akar alang-alang sebagai berikut:
   a. Pemeriksaan Organoleptis

      Fraksi n-heksan berbentuk cairan kental berwarna coklat pekat dan mempunyai bau yang khas, fraksi etil asetat berbentuk cairan kental berwarna orange dan mempunyai bau yang, dan fraksi n-butanol berbentuk cairan kental berwarna coklat pekat, dan mempunyai bau yang khas (Lampiran 10, Table II).

   b. Penentuan Rendemen

      Dari 20 g ekstrak kental etanol akar alang-alang diperoleh rendemen fraksi n-heksan sebanyak 2,3894 g (11,94%), fraksi etil asetat sebanyak 4,4323 g (22,16%) dan fraksi n-butanol sebanyak 6,145 g (30,72%) (Lampiran 11, Tabel III).

c. Pemeriksaan Susut Pengeringan

Didapatkan % susut pengeringan fraksi n-heksan : 17,69%, % susut pengeringan etil asetat : 20,78%, dan % susut pengeringan n-butanol : 25,06% (Lampiran 12, Tabel IV).

d. Identifikasi Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi n-heksan : (flavonoid dan fenolik), fraksi etil asetat : (flavonoid, fenolik, dan saponin), dan fraksi n-butanol : flavonoid, fenolik, dan saponin (Lampiran 14, Table V).

4. Penentuan kadar fenolat total dari fraksi akar alang-alang :

a. Panjang gelombang serapan maksimum asam galat 60 μg/mL adalah 755 nm dengan absorban 0,345 (Lampiran 15, Gambar 15).

b. Hasil pengukuran kurva kalibrasi larutan standar asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu dengan r = 0,9998 dan persamaan regresi y = -0,0032 + 0,00573x (Lampiran 18, Tabel VII).

c. Hasil perhitungan simpangan baku (SB) kadar fenolat = 0,00413 μg/mL, batas deteksi (BD) kadar fenolat = 2,1624μg/mL, dan batas kuantifikasi (BK) = 7,2082 μg/mL (Lampiran 20, Tabel VIII).

d. Kadar fenolat total akar alang-alang fraksi n-heksana adalah 1,48% b/b, fraksi etil asetat adalah 7,65% b/b, dan fraksi n-butanol adalah 2,86% b/b (Lampiran 22, Tabel IX ; Lampiran 24, Tabel X dan Lampiran 26, Tabel XI).

5. Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metoda DPPH:
   a. Panjang gelombang serapan maksimum DPPH 35 μg/mL pada panjang gelombang 400-800 nm yaitu 519 nm dengan absorban 0,672 (Lampiran 28, Gambar 18).
   b. Nilai IC_{50} larutan asam galat = 3,4681 μg/mL, fraksi n-heksan 359,96 μg/mL, fraksi etil asetat = 215,79 μg/mL, dan fraksi n-butanol = 258,43 μg/mL (Lampiran 29, Tabel XII, Gambar 19; Lampiran 31, Tabel XIII, Gambar 20; Lampiran 33, Tabel XIV, Gambar 21; Lampiran 35, Tabel XV, Gambar 22).
6. Kesetaraan aktivitas antioksidan masing-masing fraksi akar alang-alang dengan larutan standar asam galat (Lampiran 37 Tabel XVI).

4.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari fraksi-fraksi akar alang-alang. Sampel akar alang-alang diperoleh dari daerah Ketapiang, Kec. Batang Anai, Kabupaten Padang Pariaman, Sumatera Barat. Sebelum dilakukan penelitian, sampel diidentifikasi di herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas. Hal ini merupakan langkah awal untuk memperoleh identitas sampel dari tanaman yang digunakan. Berdasarkan identifikasi yang dilakukan diperoleh hasil bahwa sampel yang digunakan adalah akar alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch) famili Poaceae dengan nomor identifikasi 487/K-ID/ANDA/XII/2019.

Sampel akar alang-alang sebanyak 2 kg dibersihkan dari pengotor dengan cara dicuci menggunakan air mengalir. Lalu dikeringanginkan pada

suhu ruangan. Pengeringan dilakukan untuk mencegah reaksi enzimatis yang dapat menyebabkan terjadinya penguraian atau pengrusakkan senyawa didalam sampel tersebut. Selain itu proses pengeringan dapat membuat simplisia menjadi lebih awet dan tahan lama (Verawati *dkk*, 2017). Kemudian sampel diserbukkan dengan blender, tujuannya untuk mempermudah selama proses maserasi karena semakin kecil bagian tumbuhan maka akan semakin besar luas permukaannya sehingga memudahkan dalam proses penarikan zat aktifnya. Sampel yang diserbukkan ditimbang dan didapatkan beratnya sebesar 750 g.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana (Verawati *dkk*, 2017). Pelarut pengekstraksi yang digunakan adalah etanol 70% terlebih dahulu kemudian untuk pengulangan selanjutnya menggunakan etanol 96%. Etanol merupakan pelarut universal karena mampu mengekstraksi senyawa non polar dan polar. Etanol juga bersifat tidak toksik sehingga aman digunakan. Digunakan etanol 70% karena sampel dalam bentuk kering, kandungan air relatif sedikit tujuannya untuk mempermudah membuka pori-pori sampel (Verawati *dkk*, 2017). Digunakan etanol 96% dengan tujuan untuk menarik senyawa kimia yang ada pada sampel. Penyarian ini dilakukan sampai diperoleh maserat yang bening dengan cara yang sama. Gabungkan maserat, lalu maseratnya diuapkan

dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental etanol diperoleh sebanyak 207,27 g, rendemennya 27,63%.

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk mengelompokkan senyawa-senyawa yang ada dalam ekstrak kedalam kelompok polaritas berebeda yaitu non polar, semipolar dan polar. Senyawa yang bersifat non polar akan tertarik oleh pelarut non polar, senyawa yang bersifat semi polar akan tertarik oleh pelarut yang semi polar, dan senyawa yang polar akan tertarik oleh pelarut yang polar (Harborne, 1987). Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi, yaitu n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan n-butanol (polar).

Ekstrak etanol akar alang-alang sebanyak 20 gram difraksinasi dengan pelarut n-heksan dan air dengan perbandingan (1:1), yaitu 100 mL n-heksan dan 100 mL air dimasukkan dalam corong pisah, dikocok secukupnya. Setelah itu dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan n-heksan terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi n-heksan. Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat dilakukan beberapa kali pengulangan seperti perlakuan diatas sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan air, lalu lapisan air difraksinasi lagi dengan n-butanol dilakukan beberapa kali pengulangan seperti perlakuan diatas sehingga diperoleh fraksi n-butanol dan fraksi air. Adapun tujuan dilakukan fraksinasi berulang yaitu untuk mengoptimalkan pemisahan (Marcelinda *dkk*, 2016). Selanjutnya masing-masing fraksi diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C (Monika,

2015). Pemilihan suhu ini bertujuan untuk menguapkan pelarut dan agar senyawa aktif yang terdapat dalam fraksi tidak mengalami kerusakan, karena bila menggunakan suhu yang tinggi dikhawatirkan akan merusak kandungan senyawa aktif tersebut (Marcelinda *dkk*, 2016).

Dari masing-masing fraksi diperoleh, fraksi n-heksan sebanyak 2,3894 g rendemennya 11,94%, fraksi etil asetat sebanyak 4,4323 g dengan rendemen 22,16%, dan fraksi n-butanol sebanyak 6,145 g dengan rendemen 30,72%. Hasil rendemen yang paling tinggi terdapat pada fraksi n-butanol. Data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak. Sebagaimana yang telah dilaporkan Harborne (1987) bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan.

Hasil fraksi-fraksi yang diperoleh perlu dilakukan karekterisasi meliputi organoleptis, skrining fitokimia, dan susut pengeringan. Hasil pemeriksaan organoleptis fraksi n-heksan berwana coklat pekat, frasksi etil asetat berwarna orange, dan fraksi n-butanol berwarna coklat pekat, ketigaya berupa cairan kental dan memiliki bau yang khas. Hasil skrining fitokimia pada fraksi n-heksan mengandung fenolik dan flavonoid, pada fraksi etil asetat mengandung flavonoid, fenolik, dan saponin, lalu pada n-butanol mengandung flavonoid, fenolik, dan saponin.

Hasil susut pengeringan dari masing-masing fraksi diperoleh, fraksi n-heksan susut pengeringannya 17,69%, fraksi etil asetat susut pengeringannya

20,78%, dan fraksi n-butanol susut pengeringannya 25,06%. Nilai susut pengeringan ini tinggi kemungkinan sampel banyak mengandung senyawa yang mudah menguap seperti miyak atsiri dan resin, selain mengandung komponen kimia yang mudah menguap sampel diduga banyak mengandung air dan belum memenuhi standar yaitu tidak lebih dari 11% (Depkes RI, 2008). Tujuan dilakukannya susut pengeringan adalah untuk mengetahui persentase senyawa yang hilang selama proses pemanasan, tidak hanya air tetapi juga senyawa menguap lainnya (Depkes RI, 2008). Susut pengeringan dilakukan dengan pemanasan pada temperature 105°C, pada suhu ini air akan menguap dan senyawa-senyawa yang memiliki titik didih yang lebih rendah dari air akan ikut menguap juga.

Penentuan kadar fenolat total dengan metode Folin-Ciocalteu, dimana reagen Folin-Ciocalteu digunakan sebagai pereaksi. Prinsip penentuan kadar fenolat total yaitu terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yang diukur pada panjang gelombang maksimum 765 nm (Prior *et al.*,2005).

Pertama-tama dilakukan penentuan panjang gelombang serapan maksimum larutan standar asam galat, dimana asam galat merupakan salah satu golongan senyawa fenolat yang stabil dan murni, murah, dan kestabilannya tidak lebih dari 5 % bila disimpan dalam jangka waktu yang lama ± 2 minggu di dalam lemari pendingin dan tertutup (Waterhouse, 1999). Panjang gelombang serapan maksimum konsentrasi 60 µg/mL yaitu 755 nm dengan nilai absorban 0,345.

Setelah didapat panjang gelombang maksimum maka dapat dilanjutkan pengerjaan pengukuran absorban asam galat dengan konsentrasi 40, 60, 80, 100 dan 120 µg/mL. Hal ini dilakukan untuk menentukan kurva kalibrasi asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu sehingga didapat persamaan regresi untuk penentuan kadar fenolat total. Dari pengerjaan yang telah dilakukan didapatkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi y = 0,00573 - 0,0032x dan nilai r = 0,9998. Hasil kurva kalibrasi dengan nilai yang diperoleh yaitu linear dibuktikan dengan nilai r yang mendekati 1. Kemudian dilakukan penentuan kadar fenolat total fraksi n-heksan dengan konsentrasi 3000 µg/mL, diperoleh kadar fenolat sebesar 1,5 % b/b, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 1000 µg/mL, diperoleh sebesar 7,65% b/b, dan fraksi n-butanol dengan konsentrasi 2000 µg/mL , diperoleh kadar fenolat sebesar 2,86% b/b. Fraksi etil asetat mempunyai kadar fenolat total lebih tinggi dari ketiga fraksi, kemudian diikuti oleh fraksi n-butanol dan yang paling rendah ialah fraksi n-heksan. Hal ini dapat terjadi karena banyaknya senyawa bioaktif golongan fenol ikut tertarik pada proses fraksinasi dengan pelarut etil asetat. Selain itu, hal tersebut dapat juga terjadi karena golongan fenol bersifat polar atau semi polar (Hayati *dkk*, 2010). Tidak hanya fenolat yang bermanfaat sebagai antoksidan, kemungkinan senyawa flavonoid yang merupakan golongan terbesar dari senyawa golongan fenol bersifat polar sehingga akan banyak terdapat pada fraksi n-butanol. Sementara, pada fraksi etil asetat dimungkinkan banyak terdapat aglikon flavonoid yang bersifat kurang polar (Hardiana *dkk*, 2012).

Batas deteksi dan batas kuantitasi kadar fenolat total yang diperoleh masing-masing adalah 2,1624µg/mL dan 7,2082 µg/mL. Batas deteksi merupakan konsentrasi terkecil analit yang dapat diukur spektrofotometri UV-Vis, batas kuantitasi merupakan konsentrasi terendah yang dapat ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Nilai konsentrasi ketiga larutan uji telah melebihi dari nilai batas deteksi dan batas kuantitasi, yang mana konsentrasi larutan uji pada fraksi n-heksan, etil asetat dan n-butanol berturut-turut sebesar 45,1133 µg/mL, 77,55 µg/mL, dan 58,4366 µg/mL.

Pengujian aktivitas 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 memiliki aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan DPPH ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu violet menjadi kuning karena terjadi donor atom hidrogen dari antioksidan ke DPPH. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} yaitu larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi dari persen inhibisi (y) dan kosentrasi ekstrak sampel (x) dengan memasukkan nilai 50 sebagai sumbu y kedalam persamaan regresi kemudian dihitung nilai x sebagai kosentrasi $IC_{50.}$ Persen inhibisi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan.

Pada penelitian ini digunakan asam galat sebagai pembanding, karena asam galat merupakan senyawa yang murah, murni dan mempunyai

kestabilan tinggi, apabila disimpan pada waktu lebih kurang dua minggu didalam lemari pendingin dan tertutup (Waterhouse, 1999). Didapatkan aktivitas antioksidan asam galat dengan IC_{50} = 3,4681 µg/mL. Aktivitas antioksidan fraksi n-heksan diperoleh IC_{50} = 359,96 µg/ml (Lemah), fraksi etil asetat, IC_{50} = 215,79 µg/mL (Lemah) dan fraksi n-butanol, IC_{50} = 258,43 µg/mL (Lemah). Dimana tingkatan aktivitas antioksidan dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu sangat kuat (<50 µg/mL), kuat (51-100 µg/mL), sedang (101-150 µg/mL), dan lemah (>150 µg/mL) (Maulidha *dkk*, 2015). Dapat dilihat, ketiga fraksi akar alang-alang mempunyai aktivitas antioksidan yang tergolong lemah. Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan paling besar dari ketiga fraksi, kemudian diikuti oleh fraksi n-butanol dan fraksi n-heksan. Hal ini dapat terjadi karena banyaknya senyawa bioaktif yang bermanfaat sebagai antioksidan, salah satunya senyawa fenolat tertarik pada proses fraksinasi dengan menggunakan pelarut semi polar dan polar. Hal lainnya diperkirakan adanya kandungan senyawa flavonoid dalam tumbuhan alang-alang (seniawaty, 2009), dimana flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa fenolik yang bermanfaat sebagai antioksidan (Anwar dan Triyasmono, 2016).

Hasil penetapan kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan meninjukkan adanya korelasi antara keduanya, dimana semakin tinggi kadar fenolat total, maka semakin tinggi juga aktivitas antioksidannya.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan:

1. Kadar fenolat total yang diperoleh dari fraksi-fraksi akar alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch), yaitu fraksi n-heksana sebesar 1,48 % b/b, fraksi etil asetat sebesar 7,65 % b/b, dan fraksi n-butanol sebesar 2,85 % b/b.
2. Aktivitas antioksidan yang diperoleh dari fraksi-fraksi akar alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch), yaitu fraksi n-heksan dengan IC_{50} = 359,96 µg/mL tergolong lemah (>150 µg/mL) fraksi etil asetat dengan IC_{50} = 215,79 µg/ml tergolong Lemah (>150 µg/mL), fraksi n-butanol dengan IC50 = 258,43 µg/mL tergolong lemah (>150 µg/mL).

5.2 Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya untuk melakukan isolasi senyawa bioaktif lain yang terkandung dalam akar alang-alang yang bisa dimanfaatkan sebagai antioksidan agar mendapatkan aktivitas antioksidan yang lebih bagus dari yang dilakukan peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, A.R., Juwita, Ratulangi, S.A.D., dan Malik, A. 2015. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Scaiences and Research;* 2(1):1-10.

Anggraini, R., Hairani, R., dan Panggabean, A.S. 2018. Validasi Metode Penentuan Hg Pada Sampel Waste Water Treatment Plant Dengan Menggunakan Teknik Bejana Uap Dingin Spektrofotometer Serapan Atom (CV-AAS). *Jurnal Kimia Mulawarman*; 16(1):10-15.

Anggresani, L., Yuliawati, dan Desriyanti, E. 2017. Uji Total Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Thitonia diversifolia* (Hemsley) A.Gray). *Riset Informasi Kesehatan*; 6(1):18-23.

Anwar, K., dan Triyasmono, L. 2016. Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Pharmascience*; 3(1):83-92.

Arbain, D., Bakhtiar, A., Putra, D.P., dan Nurainas. 2014. *Tumbuhan Obat Sumatera*. Padang: UPT Sumber Daya Hayati Sumatera Universitas Andalas.

Aria, M., Verawati, Arel, A., dan Monika. 2015. Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Piladang (solenostemon scutellarioides (L.) Codd) Terhadap Mencit Putih Betina. *Scienta*; 5(2):84-91.

Badhani, B., Sharma, N., and Kakkar, R., 2015. Gallic Acid: a Versatile Antioxidant with Promising Therapeutic and Industrial Applications. *RSC Adv*; 5:27540-27557.

Borra, S.K., Gurumurthy, P., Mahendra, J., K.M. Jayamathi, C.N. Cherian, and Chand, R., 2013. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Curcumin Determined by Using Different in Vitro and ex Vivo Models. *Journal of Medicinal Plants Research*; 7(36):2680-2690.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

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

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Dhianawaty, D. dan Ruslin. 2015. Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alang-alang). *MKB*; 47(1):1-5.

Eko, P. dan Agfianto. 2003. *Belajar Mikrokontroller AT89CS1/25/55 : Teori dan Aplikasi*. Yogyakarta : Gava Media.

Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2015. *Spektroskopi Molekuler untuk Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 72-78.

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Edisi Kedua*. Bandung: ITB.

Hardiana, R., Rudiyansyah, dan Zaharah, T.A. 2012. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*; 1(1):8-13.

Hayati, E. K., Fasyah, A. G., dan Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia;* 4(2):193-200.

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia.Jilid 3.Edisi ke-1*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan; 1502-1503.

Isda, M.N., Wahyu, L., dan Diana, A. 2013. Optimasi Konsentrasi Ekstrak Alang-alang (*Imperata cylindrica* L.) Untuk Memacu Pertumbuhan dan Produksi Jagung Manis (Zea mays Sacharata Sturt). *Al-Kauniyah Jurnal Biologi*; 6(1):1-6.

Khaerunnisa, S.T. 2009. *Pemanfaatan Senyawa Bioaktif Dari Akar Alang-alang (Imperata cylindrica L.) Sebagai Bahan Antioksidan*. Jakarta: Universitas Airlangga Press.

Lopez, & Snyder, C.R. 2003. *Positive Psychological Assessment a Handbook of Models & measures.*Washington. DC : APA

Mak-Mensah, E.E., Komlaga, G., dan Terlabi, E.O. 2010. Antihypertensive Action of Ethanolic Extract of *Imperata cylindrical* Leaves In Animal Models. *Journal of Medicinal Plants Research*; 4(14):1486-1491.

Marcelinda. A., Ridhay. A., dan Prismawiryanti. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (Coffea sp) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Journal of Natural Since*; 5(1):21-30.

Marino, T., Galano, A., and Russo, N., 2014. Radical Scavenging Ability of Gallic Acid Toward OH and OOH Radicals: Reaction Mechanism and Rate Constants from the Density Functional Theory. *The Journal of Physical Chemistry B*; 118(35):10380-10389.

Maulidha. N., Fridayanti. A., dan Masruhim. M.A. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hitam (Piper sp.) Terhadap DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl Hidrazyl). *Jurnal Sains dan Kesehatan*; 1(1):16-20.

Molyneux, P. 2004. The use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal Science of Technology;* 26(2):211-219.

Mosquera, O. M., Corra, Y. M., Buitrago, D. C., and Nino J. 2007. Antioxidant Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodiversity. *Mem. Inst. Oswaldo Crus*; 102(5):631-634.

Mulyadi, M., Wuryanti, dan Purbowatinigrum, R. S. 2013. *Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-alang (Imperata cylindrica L.) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram*; 1(1):35-42.

Padma, R., Parvathy, N.G., Renjith, V., dan Rahate, K.P. 2013. Quantitative Estimation of Tannins, Phenols and Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Imperata cylindrica. *Int J Res Pharm Sci*; 4(1):73–7.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., dan Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*; *5*(11):1142–1145.

Prior, R. L., Wu, X., dan Schaich, K. 2005. Standardized Methods for The Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics In Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry;* 53(10):4290-4302.

Purwaningsih, S., Salamah, E., dan Budiarti, T.A. 2014. Formulasin Skin Lotion dengan Penambahan Karagen dan Antioksidan Alami dari *Rhizophora mucronata* Lamk. *Jurnal Akuatika*; 5(1):55-62.

Selawa, W., Runtuwene, M. R. J., dan Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong [*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.].*Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*; 2(1):2302-2493.

Seniwaty, Raihanah, Nugraheni, I. K., dan Umaningrum, D. 2009. Skrining Fitokimia Dari Alang-alang (*Imperata cylindrica* L.Beauv) dan Lidah Ular (Hedyotis Corymbosa L.Lamk).*Sains dan Terapan Kimia*; 3(2):124-133.

Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.

Talapessy, S., Suryanto, E., dan Yudistira, A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ampas Hasil Pengolahan Sagu (Metroxylon sagu Rottb). *Jurnal Ilmiah Farmasi;* 2(3):40–44.

Trissanthi, C. M. dan Susanto, W. H. 2016. Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat dan Lama Pemanasan Terhadap Karakteristik Kmia dan Organoleptik Sirup

Alang-alang (*Imperata cylindrical* L.).*Jurnal Pangan dan Agroindustri;* 4(1p):180-189.

Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B.T., dan Jonathan, J.G. 2016. *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L.).* Yogyakarta : Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.

Verawati, Nofiandi D., dan Petmawati. 2017. Pengaruh Metoda Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam. *Jurnal Katalisator*; 2(2):53-60.

Waston, D. G. 2009. *Analisis Farmasi : Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi Edisi ke 2*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC.

Waterhouse, A. 1999. *Folin-Ciacalteu Micro Method For Total Phenol In Wine*. Departement Of Viticulture & Enology University Of California: Davis.

Werdhasari A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*; 3(2):59-68.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kanisius.

Windono, T., Budiono, R., Ivone, Sherly, V., dan Saputro, Y. 2004. Studi Hubungan Struktur Aktivitas Kapasitas Perendaman Radikal Bebas Senyawa Flavonoid Terhadap 1,1 difenil 2 pikrilhidrazil (DPPH). *Arocarpus;* 4(1):42-52.

Yanti, M., Indriyanto, dan Duryat. 2016. Pengaruh Zat Aleopati Alang-alang Terhadap Pertumbuhan Semai Tiga Spesies Akasia. *Jurnal Sylva Lestari*; 4(2):27-38.

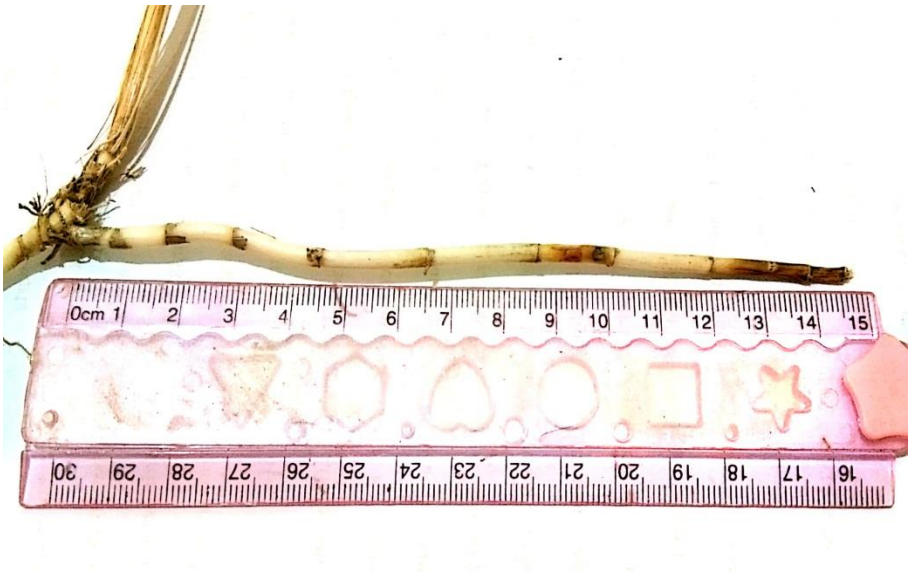
Zuhra, C.F., Br J., dan Sihotang, H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*; 3(1):7-10.

Zulharmita, Prajuwita, M., Boestari, A. 2010. Penetapan Kadar Fenolat Dan Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Segar Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*; 15(1):42-51.

Zhou, X., Wang, J., Jiang, B., Shang, J., dan Zhao, C. 2013. A Study of Extraction Process and in Vitro Antioxidant Activity of Total Phenols from Rhizoma Imperatae. *Afr J Tradit Complement Altern Med* ;10(4):175–8.

Lampiran 1. Foto Tumbuhan dan Akar Alang-alang

Gambar 5 . Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)



Gambar 6 . Akar Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

Lampiran 2. Surat Identifikasi Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

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 : 487/K-ID/ANDA/XII/2019
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Windi Wildaningsih
Di
Tempat

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.

Nama : Windi Wildaningsih
No. BP : 1604044
Instansi : STIFI YP PADANG

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies	Sinonim
1.	Poaceae	*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch	*Imperata cylindrica* var. africana (Andresson) C.E.Hubb.

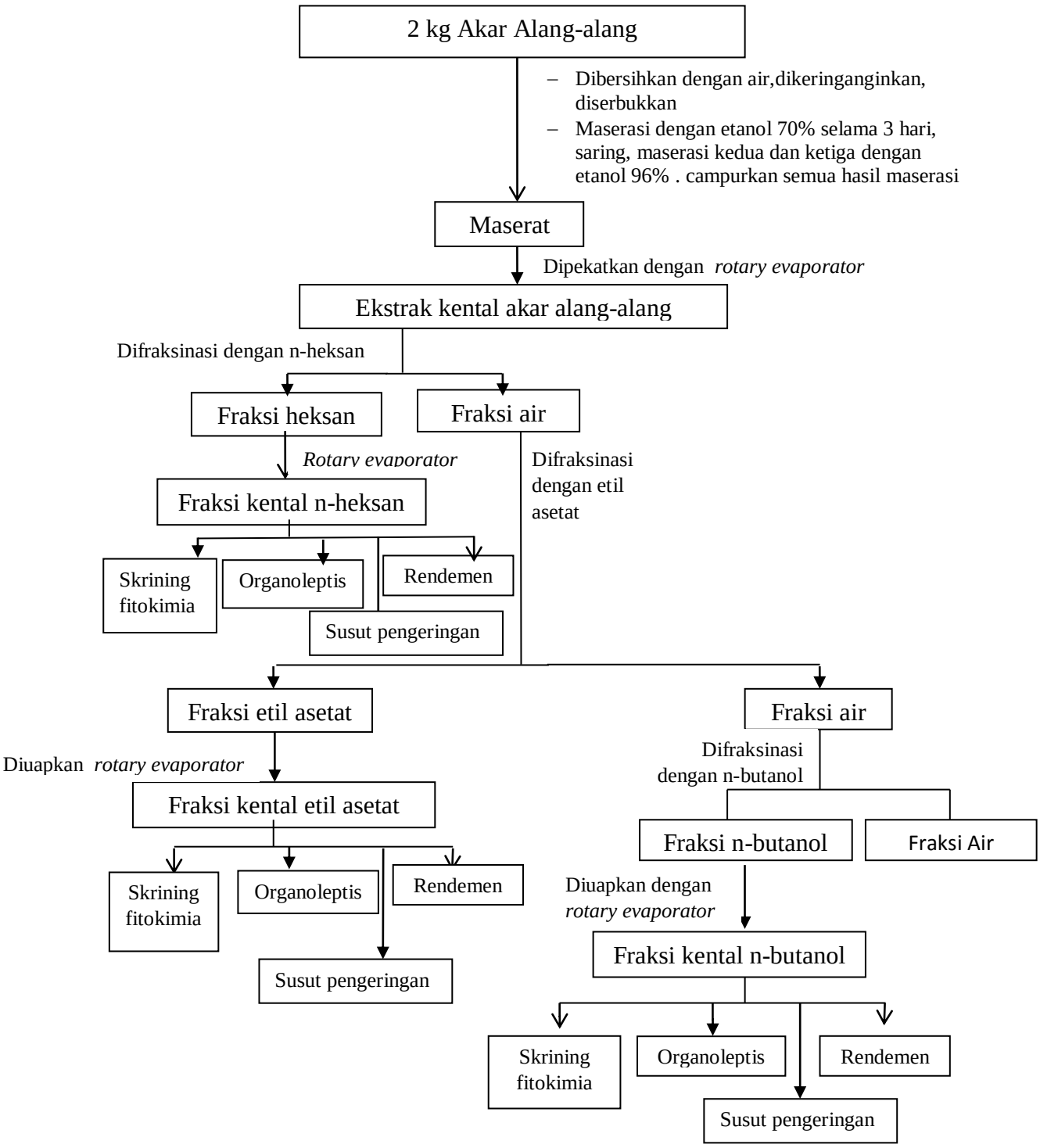
Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 11 Desember 2019
Kepala,

Dr. Nurainas
NIP. 196908141995122001

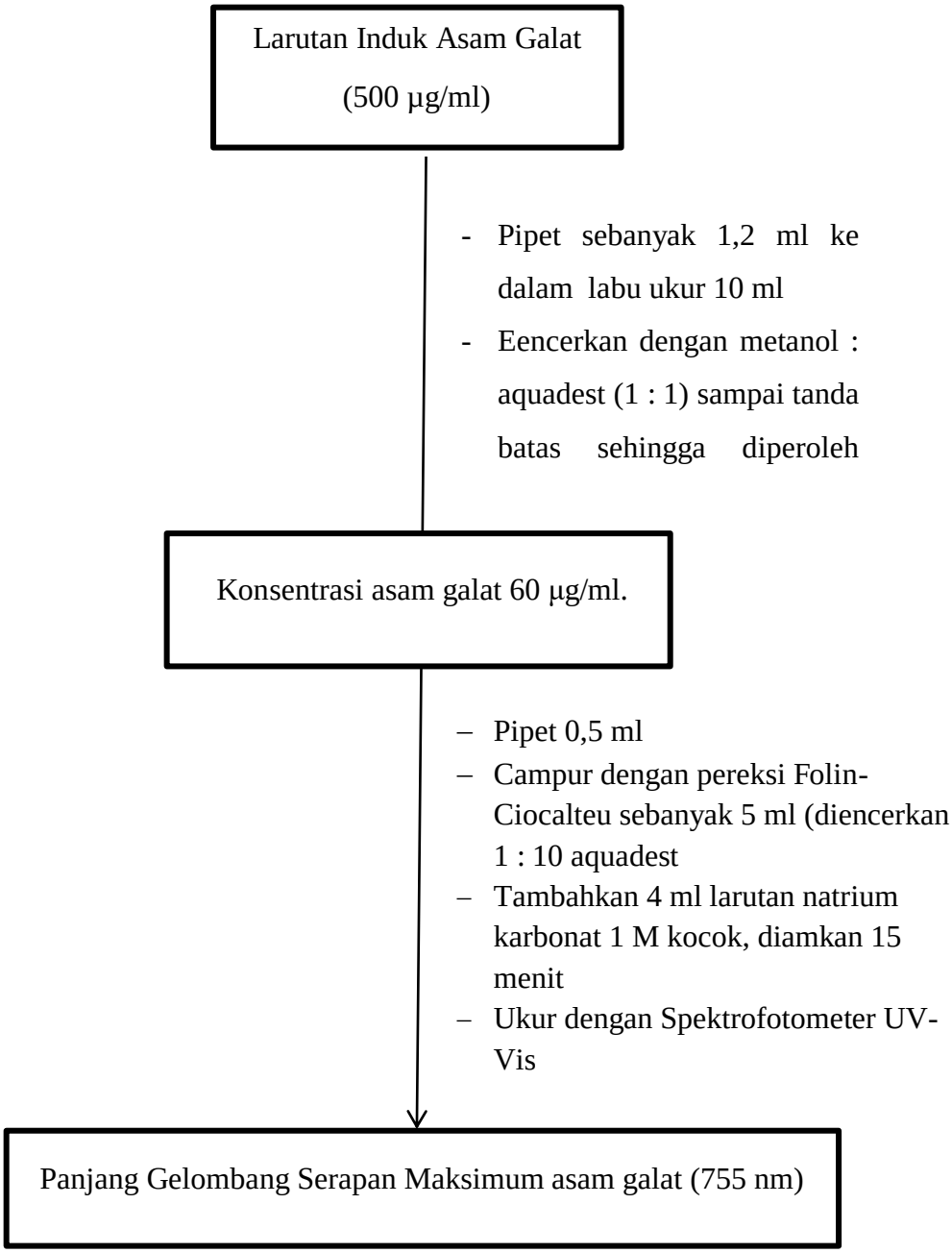
Gambar 7. Surat Identifikasi Tumbuhan Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch)

Lampiran 3. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Akar Alang-alang



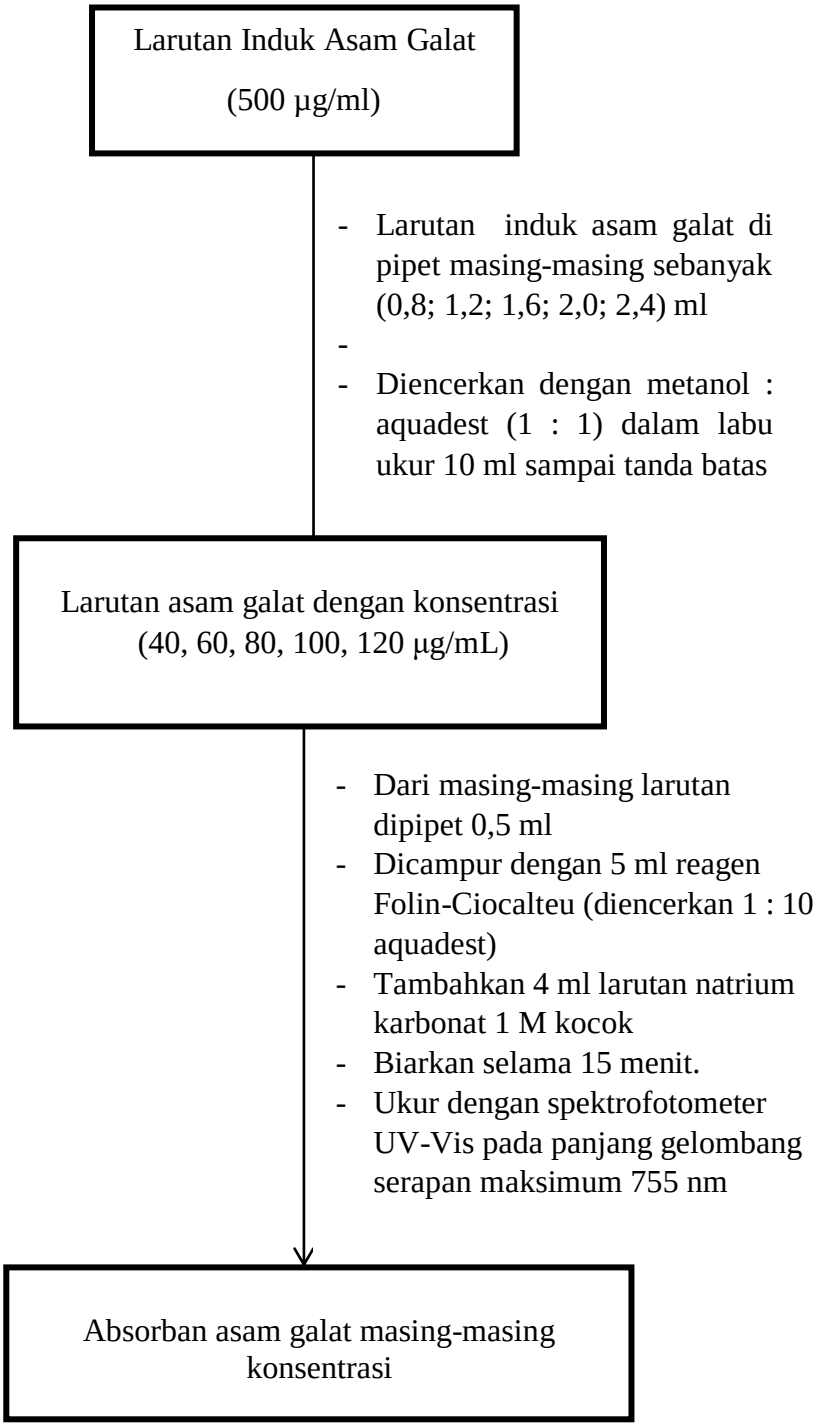
Gambar 8. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Akar Alang-alang

Lampiran 4. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat dengan Pereaksi Folin-Ciocalteu



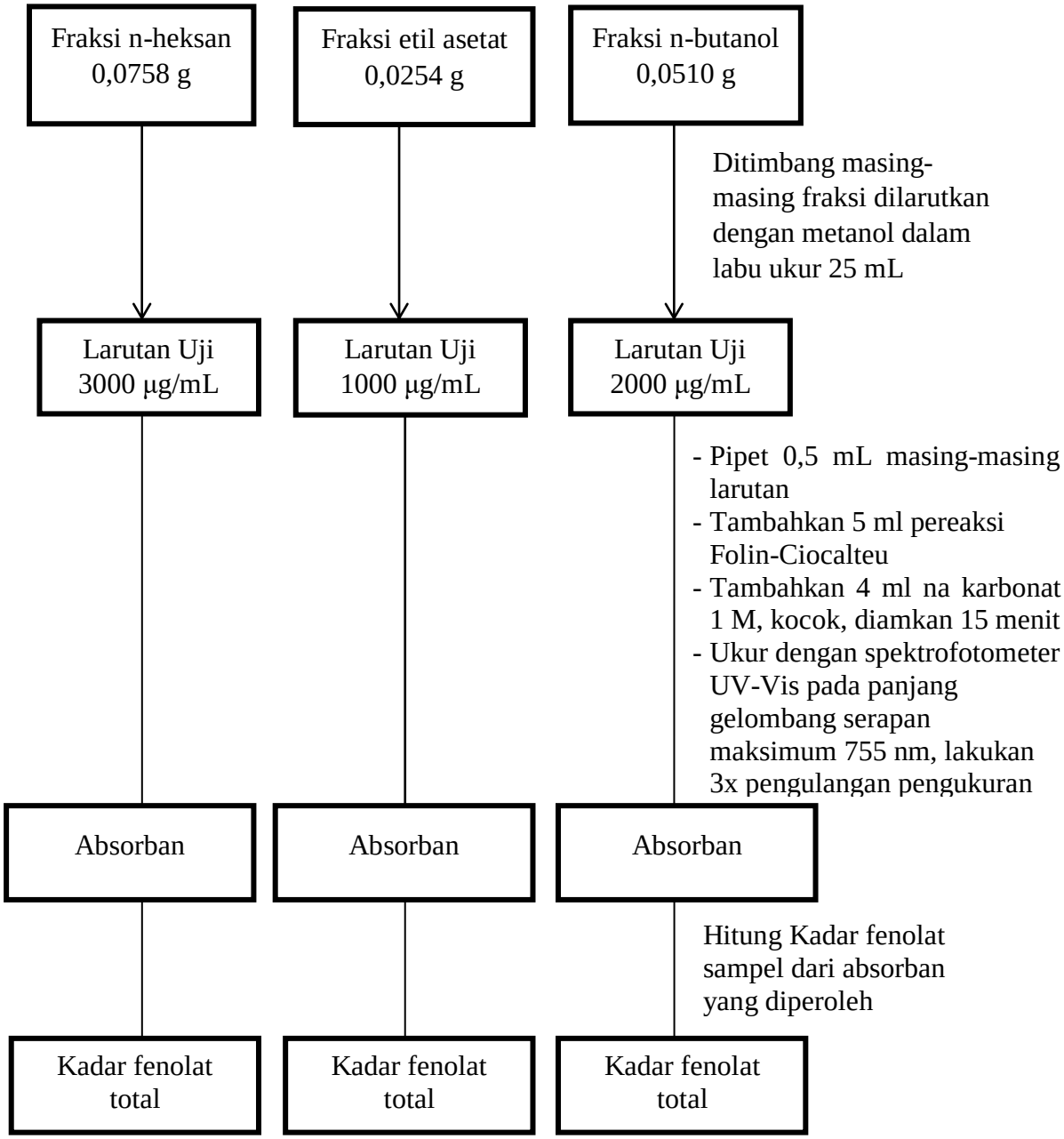
Gambar 9. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat 60 µg/mL.

Lampiran 5. Skema Kerja Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis



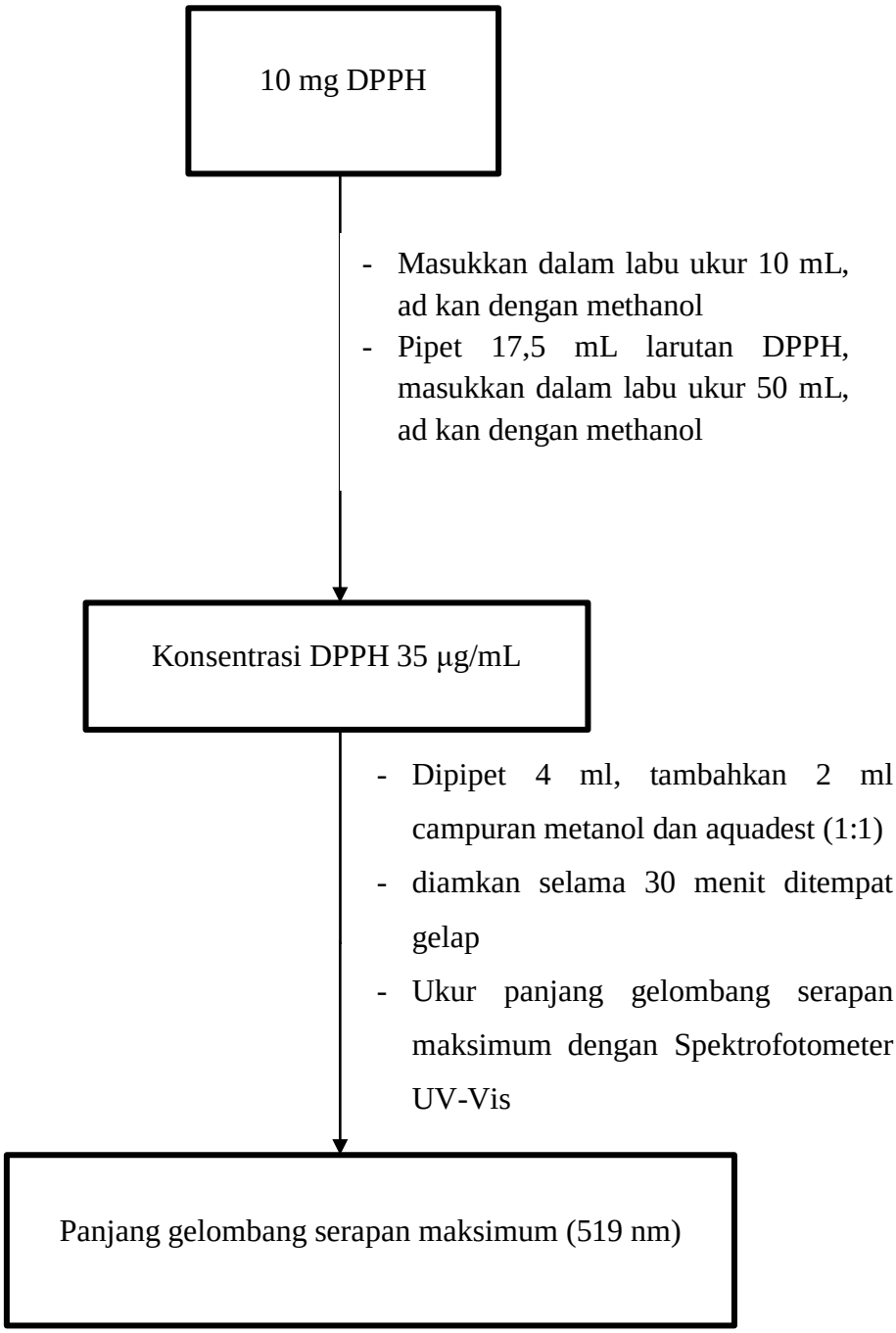
Gambar 10. Skema Kerja Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 6. Skema Kerja Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi Akar alang-alang dengan Spektrofotometer UV-Vis



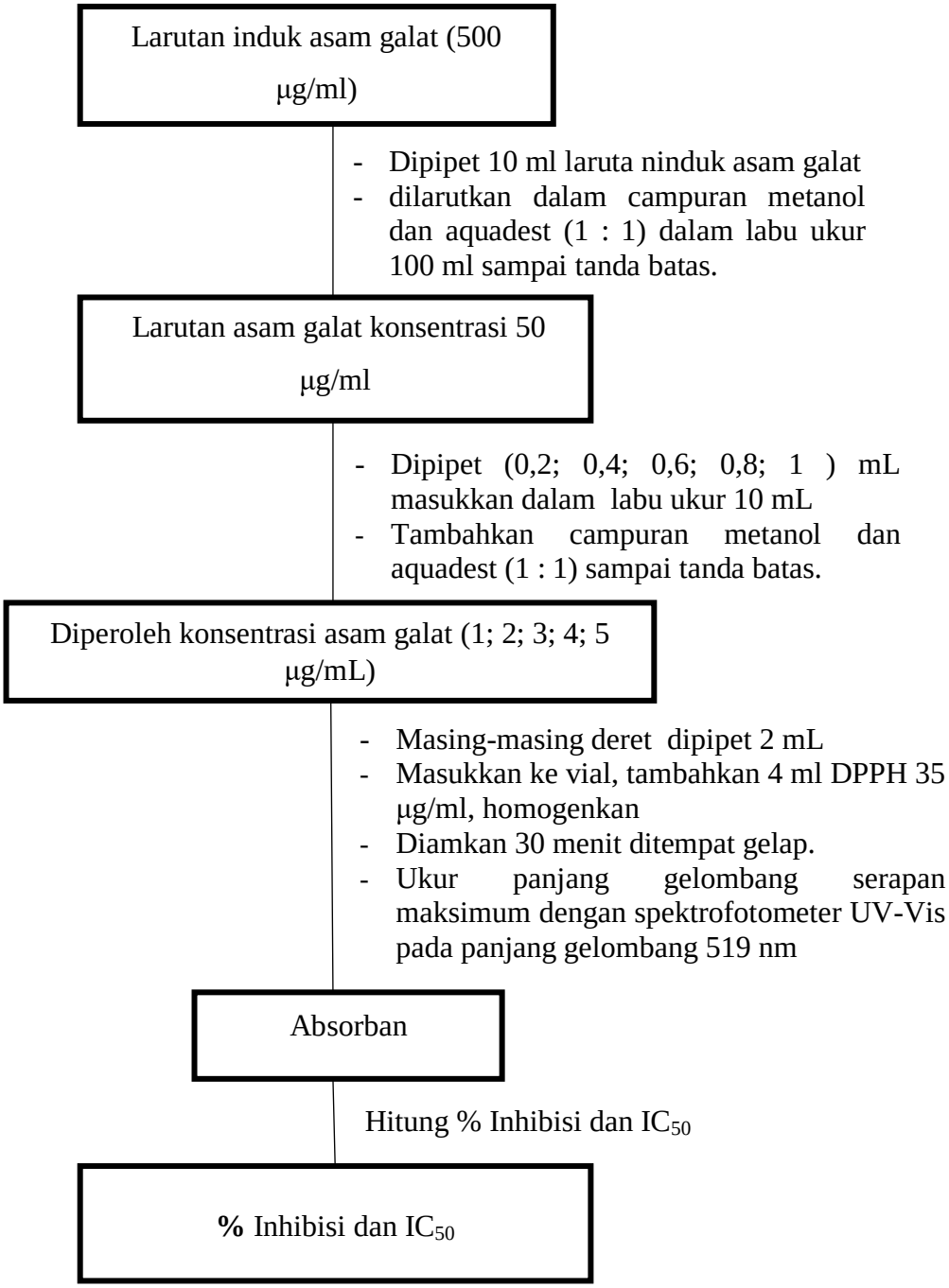
Gambar 11. Skema Kerja Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi Akar-alang-alang dengan Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 7. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis



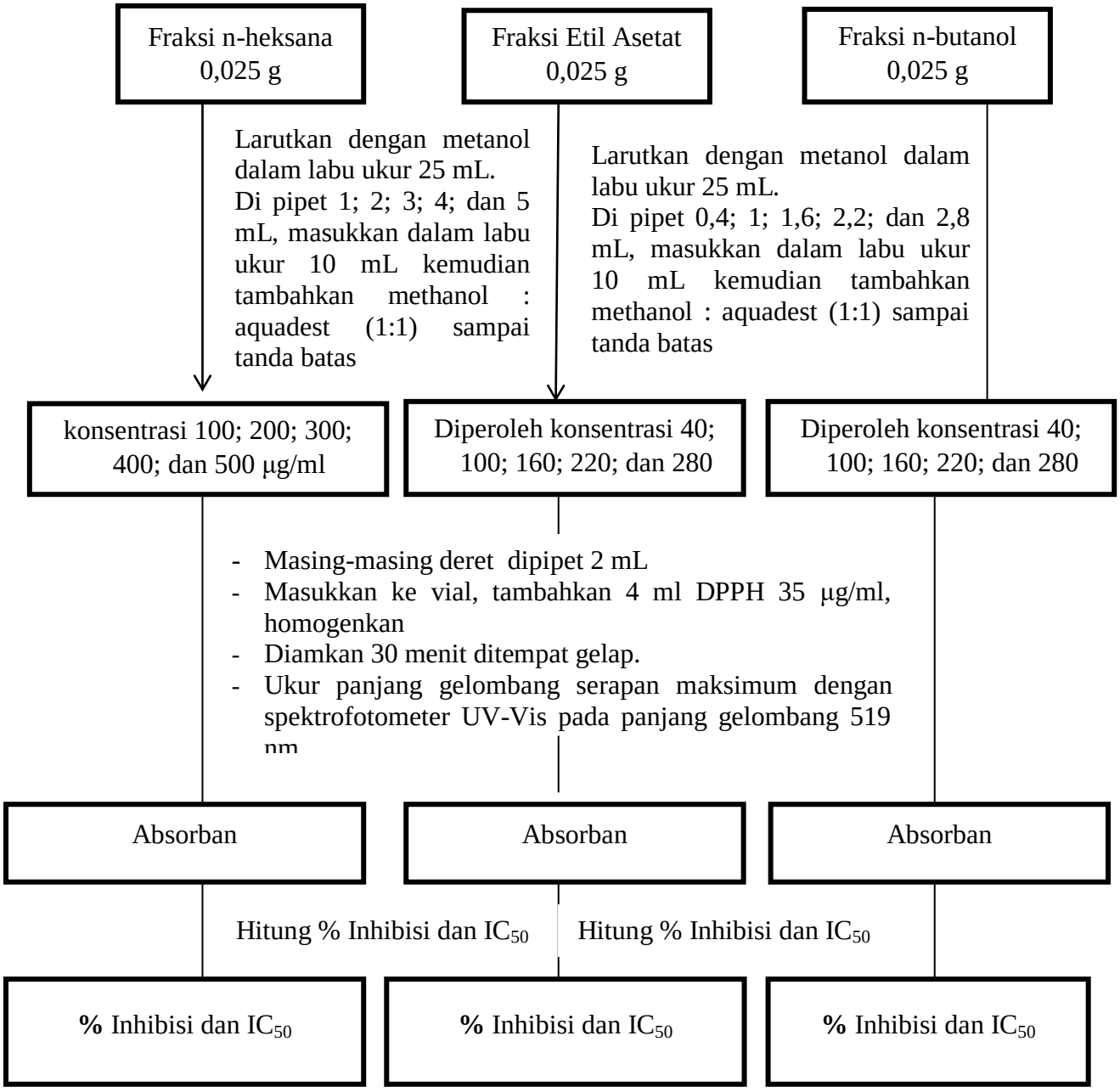
Gambar 12. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH 35 µg/mL

Lampiran 8. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan Larutan Standar Asam Galat



Gambar 13. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan Larutan Standar Asam Galat

Lampiran 9. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Akar Alang-alang



Gambar 14. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Akar Alang-alang

Lampiran 10. Hasil Pemeriksann Organoleptis Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Akar Alang-alang

Tabel II. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Fraksi-Fraksi Akar Alang-alang

No	Pemeriksaan	Pengamatan		
		Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi n-butanol
1	Bentuk	Cairan Kental	Cairan Kental	Cairan Kental
2	Warna	Coklat Pekat	Orange	Coklat Pekat
3	Bau	Bau khas	Bau khas	Bau khas

Lampiran 11. Hasil Rendemen Fraksi-fraksi Akar Alang-alang

Tabel III. Hasil rendemen fraksi-fraksi akar alang-alang

Sampel	Berat sampel awal (g)	Berat ekstrak (g)	Randemen (%)
Ekstrak etanol	750 g	207,27 g	27,63 %
Fraksi n-heksan	20 g	2,3894 g	11,94 %
Fraksi etil asetat	20 g	4,4323 g	22,16 %
Fraksi n-butanol	20 g	6,145 g	30,72 %

Rumus :

$$\textbf{\% Rendemen} = \frac{\textbf{berat ekstrak}}{\textbf{berat sampel awal}} \textbf{x 100\% = 11,94 \%}$$

- Persentase rendemen ekstrak etanol

  % Rendemen $= \frac{207{,}27\ \text{g}}{750\ \text{g}}$ x 100% = 27,63%

- Persentase rendemen fraksi n-heksan :

  % Rendemen = $\frac{2{,}3894\ \text{g}}{20\ \text{g}}$x 100% = 11,94 %

- Persentase rendemen fraksi etil asetat :

  % Rendemen = $\frac{4{,}4323\ \text{g}}{20\ \text{g}}$x 100% = 22,16 %

- Persentase rendemen fraksi n-butanol :

  % Rendemen = $\frac{6{,}145\ \text{g}}{20\ \text{g}}$x 100% = 30,72 %

Lampiran 12. Hasil Perhitungan Susut Pengeringan Fraksi-fraksii Akar Alang-alang

Tabel IV. Hasil Perhitungan Susut Pengeringan Fraksi-fraksi Akar Alang-alang

Sampel	Berat krus kosong (g)	Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (g)	Berat krus + stelah smpel dipanaskan (g)	Susut Pengeringan (%)
Fraksi n-heksan	39,4403	40,4515	40,2808	17,69 %
Fraksi etil asetat	39,8490	40,8644	40,6533	20,78 %
Fraksi n-butanol	39,8479	40,8533	40,6013	25,06 %

Pemeriksaan susut pengeringan fraksi-fraksi akar alang-alang

$$\textbf{Susut pengeringan} = \frac{(\mathbf{B}-\mathbf{A}) - (\mathbf{C}-\mathbf{A})}{(\mathbf{B}-\mathbf{A})} \textbf{x } \mathbf{100\%}$$

Keterangan : A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan

- Pemeriksaan susut pengeringan fraksi n-heksan

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{(40{,}4615-39{,}4403) - (40{,}2808-39{,}4403)}{(40{,}4615-39{,}4403)} \text{ x } 100\%$$

$$= 17{,}69\%$$

Lampiran 13. (Lanjutan)

- Pemeriksaan susut pengeringan fraksi etil asetat

Susut pengeringan $= \frac{(40{,}8644-39{,}8490)-(41{,}6533-39{,}8490)}{(40{,}8644-39{,}8490)}$ x 100%

= 20,78%

- Pemeriksaan susut pengeringan fraksi n-butanol

Susut pengeringan $= \frac{(40{,}8533-39{,}8479)-(40{,}6013-39{,}8479)}{(40{,}8533-39{,}8479)}$ x 100%

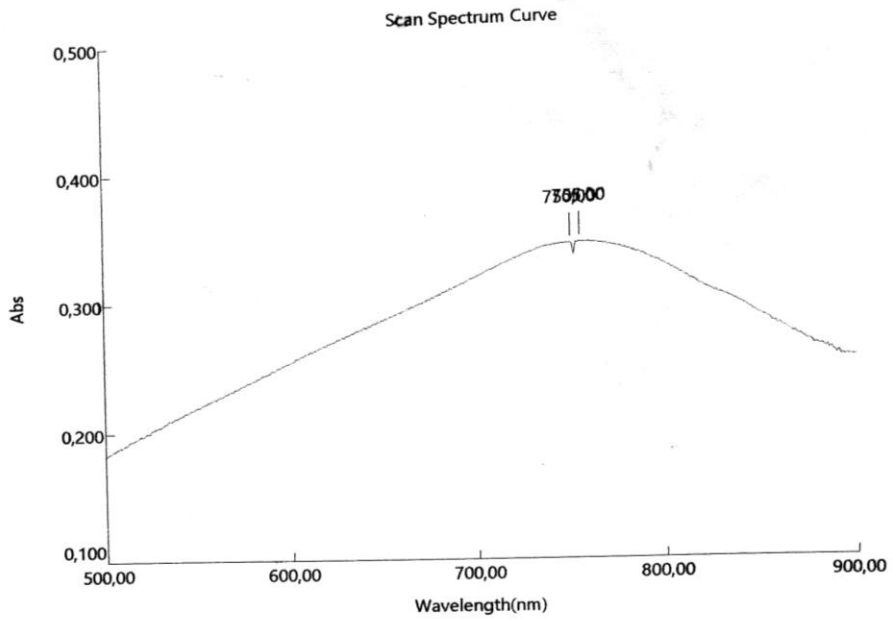
= 25,06%

Lampiran 14. Hasil Pemeriksaan Fitokimia Fraksi-Fraksi Akar Alang-alang

Tabel V. Hasil Pemeriksaan Fitokimia Fraksi-Fraksi Akar Alang-alang

Kandungan kimia	Pereaksi	Pengamatan	Hasil Fraksi n-heksan	Hasil Fraksi etil asetat	Hasil Fraksi n-butanol
Alkaloid	Mayer	Terbentuk kabut putih	-	-	-
Flavonoid	Mg/HCl p	Terbentuk warna orange-merah	+	+	+
Fenolik	$FeCl_3$	Terbentuk warna biru	+	+	+
Saponin	Air	Terbentuk busa	-	+	+
Steroid	H_2SO_4	Terbentuk warna hijau	-	-	-
Terpenoid	as asetat anhidrat	Terbentuk warna Merah keunguan	-	-	-

Lampiran 15. Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat Menggunakan Spektrofotometer UV-Visible



- **Instrument Performance**
  Model : UV-VIS Spectrophotometer
  Number : 20-1950-21-0012
  Spectral Bandwidth : 2.00 nm
- **Scan Spectrum Performance**
  Scan Range : 500.00 to 900.00 nm
  Measure Mode : Abs
  Interval : 1.00 nm
  Speed : Medium
  Data File : 3.spd
  Create Date/Time : 26 Juni 2020 14:05:22
  Data Type : Original
  Method File:
- **Analyse Note**
  Analyser : Administrator
  Sample Name :
  Comment :

No.	P/V	Wavelength(nm)	Abs	Comment
1	Peak	755,00	0,345	
2	Peak	750,00	0,344	

Panjang Gelombang Serapan Maksimum	Absorban
755 nm	0,345

Gambar 15. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat 60 µg/mL

Lampiran 16. Sertifikat Analisis Asam Galat

SIGMA-ALDRICH

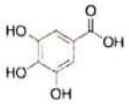
sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@sial.com
Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name
Gallic acid - 97.5-102.5% (titration)

Product Number:	**G7384**
Batch Number:	**SLBW1278**
Brand	SIGMA
CAS Number:	149-91-7
MDL Number:	MFCD00002510
Formula:	C7H6O5
Formula Weight:	170.12 g/mol
Quality Release Date:	20 OCT 2017



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White to Beige	Off-White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Colorless to Faint Yellow	Almost Colorless
Solubility (Turbidity) 50 mg/mL, EtOH	Clear to Very Slightly Hazy	Clear
Loss on Drying	≤ 10 %	3 %
Purity (GC)	≥ 98.5 %	100.0 %
Titration by NaOH (dry basis)	97.5 - 102.5 %	99.5 %

Rodney Burbach, Manager
Analytical Services
St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1

Page 1 of 1

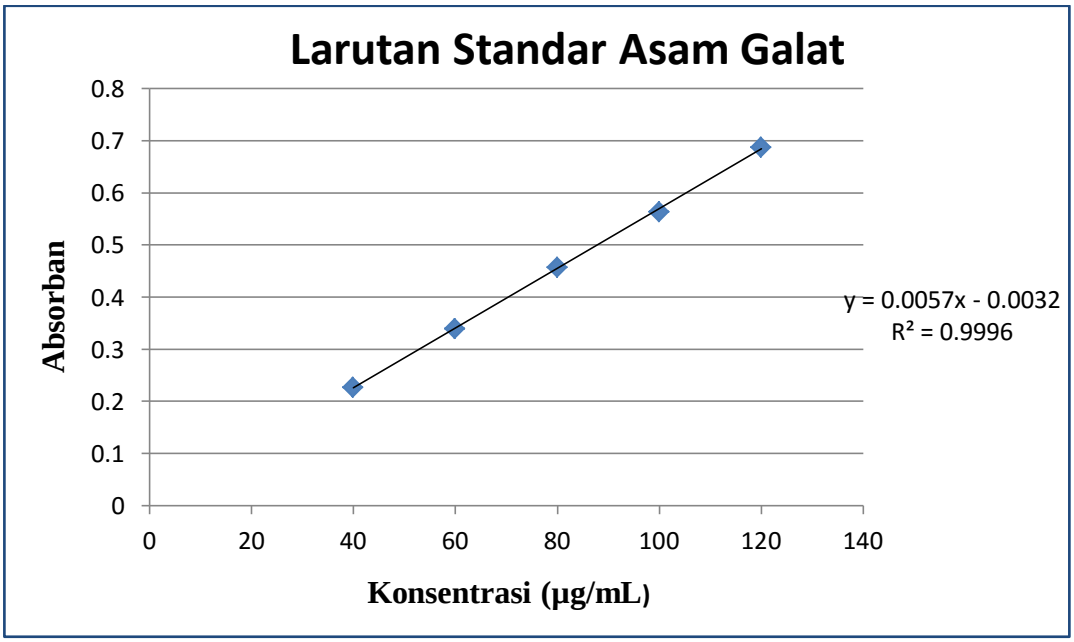
Dipindai dengan CamScanner

Gambar 16. Sertifikat Analisis Asam Galat

Lampiran 17. Hasil Perhitungan Absorban Larutan Standar Asam Galat dengan Metode Folin-Ciocalteu

Tabel VI. Hasil Perhitungan Absorban Larutan Standar Asam Galat dengan Metode Folin-Ciocalteu

No	Konsentrasi (µg/mL)	Absorban
1	40	0,227
2	60	0,340
3	80	0,457
4	100	0,546
5	120	0,688



Gambar 17. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

Lampiran 18. Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Larutan Standar Asam Galat

Tabel VII. Perhitungan Persamaan Regresi Larutan Standar Asam Galat

No.	X	Y	X^2	Y^2	X.Y
1	40	0,227	1600	0,051529	9.08
2	60	0,340	3600	0,1156	20.4
3	80	0,457	6400	0,208849	36.56
4	100	0,564	10000	0,318096	56,4
5	120	0,688	14400	0,473344	82,56
Σ	400	2,276	36000	1,167418	205,0

Dimana : X = Konsentrasi Asam Galat

Y = Absorban Asam Galat pada λ = 768 nm

1. Koefisien Korelasi (r)

$$r = \frac{n\Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{\sqrt{\{(n\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2\}\{(n\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2\}}}$$

$$r = \frac{5 \cdot (205) - (400) \cdot (2{,}276)}{\sqrt{\{(5 \cdot 36000) - (400)^2\}\{(5 \cdot 1{,}167) - (2{,}276)^2\}}}$$

$$r = \frac{1025 - 910{,}4}{\sqrt{\{(180000) - (160000)\}\{(5{,}837) - (5{,}1801)\}}}$$

$$r = \frac{114{,}6}{\sqrt{\{20000\}\{0{,}6569\}}}$$

$$r = \frac{114{,}6}{\sqrt{13138{,}0}}$$

Lampiran 19. (Lanjutan)

$$r = \frac{114,6}{114,6211}$$

$$r = 0,9998$$

2. Koefisien Regresi (b)

$$\mathrm{b} = \frac{n\Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{n\Sigma \mathrm{x}^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$\mathrm{b} = \frac{5 \cdot (205) - (400) \cdot (2,276)}{(5.36000) - (400)^2}$$

$$\mathrm{b} = \frac{1025 - 910,4}{(180000) - (160000)}$$

$$\mathrm{b} = \frac{114,6}{20000}$$

$$\mathrm{b} = 0,00573$$

3. Tetapan Regresi (a)

$$\mathrm{a} = \frac{\Sigma \mathrm{y} - \mathrm{b}\Sigma \mathrm{x}}{\mathrm{n}}$$

$$\mathrm{a} = \frac{(2,276) - (0,00573) \cdot (400)}{5}$$

$$\mathrm{a} = \frac{(2,276) - 2,292}{5}$$

$$\mathrm{a} = \frac{-0,016}{5}$$

$$\mathrm{a} = -0,0032$$

Jadi, persamaan regresi dari kurva kalibrasi adalah :

y = a + bx

y = -0,0032 + 0,00573x

Lampiran 20. Hasil Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK) Metode Folin-Ciocalteu

Tabel VIII. Hasil Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK) Metode Folin-Ciocalteu

No	Konsentrasi (µg/mL)	(y)	(yi)	y-yi	$(y-yi)^2$
1	40	0,227	0,226	0, 001	0,000001
2	60	0,340	0,3406	-0,0006	0,00000036
3	80	0,457	0,4552	0,0018	0,00000324
4	100	0,564	0,5698	-0,0058	0,00003364
5	120	0,688	0,6844	0,0036	0,00001296
Total					0,0000512
N					5
SB (µg/mL)					0,0041303
BD (µg/mL)					2,1624
BK (µg/mL)					7,2082

Keterangan:

(y) : Nilai absorban terbaca

(yi) : Nilai absorban perhitungan

(y-yi) : Selisih nilai absorban perhitungan dengan absorban terbaca

n : Jumlah data

SB : Simpangan baku

BD : Batas deteksi (µg/mL)

BK : Batas kuantitasi (µg/mL)

Lampiran 21. (Lanjutan)

1. **Simpangan Baku Kadar Fenolat Total**

$$SB = \sqrt{\frac{\Sigma(y-yi)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0,0000512}{5-2}} = 0,0041303 \text{ µg/mL}$$

2. **Batas Deteksi (BD) Kadar Fenolat Total**

$$BD = \frac{3 \text{ x SBr}}{slope \text{ (b)}} = \frac{3\ x\ 0,0041303}{0,00573} = 2,1624 \text{ µg/mL}$$

3. **Batas Kuantitasi (BK) Kadar Fenolat Total**

$$BK = \frac{10 \text{ x SBr}}{slope \text{ (b)}} = \frac{10 \text{ x } 0,041303}{0,00573} = 7,2082 \text{ µg/mL}$$

Lampiran 22. Hasil Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi N-Heksan Akar Alang-alang

Tabel IX. Hasil Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi N-Heksan Akar Alang-alang

Pengukuran	Abs	$\bar{C}$ (µg/mL)	C - $\bar{C}$	(C - $\bar{C}$)^2	Kadar fenolat (% b/b)
1.	0,252	44,53	- 0,58	0,3364	1,48
2.	0,256	45,23	0,12	0,144	
3.	0,258	45,58	0,47	0,2209	
		$\bar{C}$ = 45,11		$\sum$ = 0,7013	

a. Kadar Fenolat Total = $\frac{\boldsymbol{C \text{ x } V \text{ x } FP}}{\textbf{Berat Sampel}}$ **x 100**

Keterangan : C = Konsentrasi (µg/mL)

V = Volume Sampel (mL)

FP = Faktor Pengenceran

Dari 0,0758 g fraksi heksana dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL, maka :

$$\text{KFT} = \frac{(45{,}1133\ \mu g/mL) \text{ x } 25\ mL \text{ x } 1}{0{,}0758\ g}$$

= 14879,05µg/g

= 14,8790 mg/g

= 0,01487 g/g

= 1,48 % b/b

Lampiran 23. (Lanjutan)

b. Standar Deviasi (SD)

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

$$= \sqrt{\frac{0{,}7013}{3-1}}$$

$$= \sqrt{0{,}35065}$$

= 0,5921 µg/mL

c. Koefisien Variasi (KV)

$$\textbf{KV} = \frac{\text{SD}}{\text{x}} \text{ x } 100\%$$

$$= \frac{0{,}5921}{45{,}11} \text{ x } 100\%$$

= 1,31 %

Lampiran 24. Hasil Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi Etil Asetat Akar Alang-alang

Tabel X. Hasil Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi Etil Asetat Akar Alang-alang

Pengukuran	Abs	C (µg/mL)	C - $\bar{C}$	(C - $\bar{C}$)^2	Kadar fenolat (% b/b)
1.	0,442	77,69	- 0,06	0,0036	7,65
2.	0,443	77,87	0,12	0,0144	
3.	0,442	77,69	- 0,06	0,0036	
		$\bar{C}$ = 77,75		$\sum$ = 0,0216	

a. Kadar Fenolat Total $= \frac{C \text{ X V X FP}}{\text{Berat Sampel}} \text{x } 100$

Dari 0,0254 g fraksi etil asetat dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL,

$$\text{KFT} = \frac{(77{,}75\ \mu\text{g/mL}) \text{ x } 25 \text{ mL x } 1}{0{,}0254 \text{ g}}$$

= 76525,59µg/g

= 76,5255 mg/g

= 0,0765 g/g

= 7,6525 % b/b

b. Standar Deviasi (SD)

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

$$= \sqrt{\frac{0{,}0216}{3-1}}$$

$$= \sqrt{0{,}0108}$$

= 0,1039 µg/mL

Lampiran 25. (Lanjutan)

c. Koefisien Variasi (KV)

$$\mathbf{KV} = \frac{\mathrm{SD}}{\mathrm{x}} \text{ x } 100\%$$

$$= \frac{0{,}1039}{77{,}75} \text{ x } 100\%$$

= 0,1336 %

Lampiran 26. Hasil Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi N-butanol Akar Alang-alang

Tabel XI. Hasil Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi N-butanol Akar Alang-alang

Pengukuran	Abs	C (µg/mL)	C - $\bar{C}$	(C - $\bar{C}$)^2	Kadar fenolat (% b/b)
1.	0,332	58,49	0,06	0,0036	2,86
2.	0,330	58,15	- 0,28	0,0784	
3.	0,333	58,67	0,24	0,0576	
		$\bar{C}$ = 58,43		$\sum$ = 0,1396	

a. Kadar Fenolat Total = $\frac{C \text{ X V X FP}}{\text{Berat Sampel}}$x 100

Dari 0,0510 g fraksi heksana dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL,

KFT = $\frac{(58{,}4366 \text{ µg/mL}) \text{ x } 25 \text{ mL x } 1}{0{,}0510 \text{ g}}$

= 28645,39µg/g

= 28,6453 mg/g

= 0,02864 g/g

= 2,86 % b/b

b. Standar Deviasi (SD)

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

= $\sqrt{\frac{0{,}1396}{3-1}}$

=$\sqrt{0{,}0698}$

= 0,2641 µg/mL

Lampiran 27. (Lanjutan)

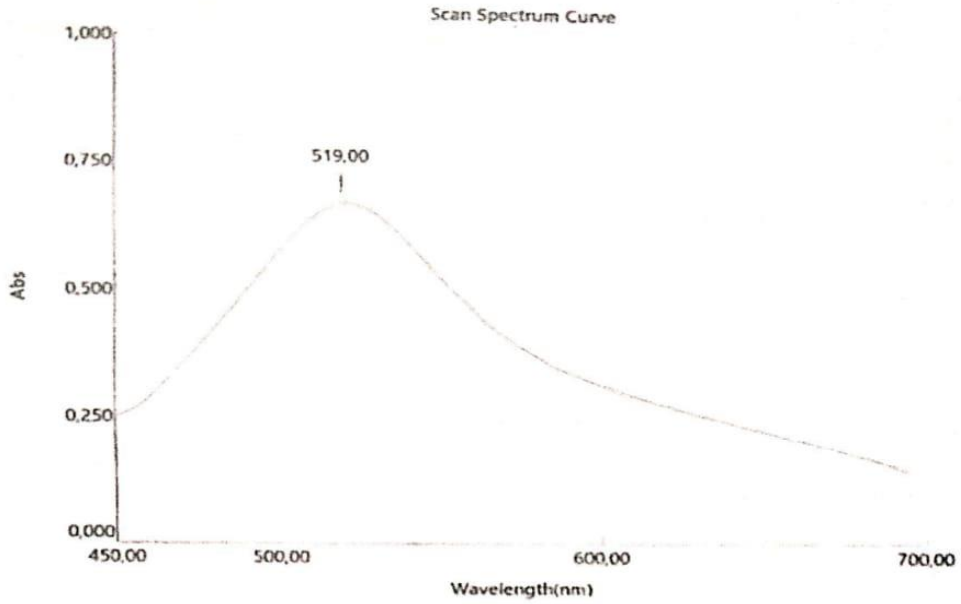
c. **Koefisien Variasi (KV)**

$$\mathbf{KV} = \frac{\mathrm{SD}}{\mathrm{x}} \text{ x } 100\%$$

$$= \frac{0{,}2641}{58{,}43} \text{ x } 100\%$$

= 0,4519 %

Lampiran 28. Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH Menggunakan Spektrofotometer UV-Visible



- **Instrument Performance**
  Model : UV-VIS Spectrophotometer
  Number : 20-1950-21-0012
  Spectral Bandwidth : 2.00 nm
- **Scan Spectrum Performance**
  Scan Range : 400.00 to 800.00 nm
  Measure Mode : Abs
  Interval : 1.00 nm
  Speed : Medium
  Data File : Untitled1.spd
  Create Date/Time : 29 Juni 2020 11:20:55
  Data Type : Original
  Method File:
- **Analyse Note**
  Analyser : Administrator
  Sample Name :
  Comment :
- **No. P/V Wavelength(nm) Abs Comment**
  1 Peak 519,00 0,672

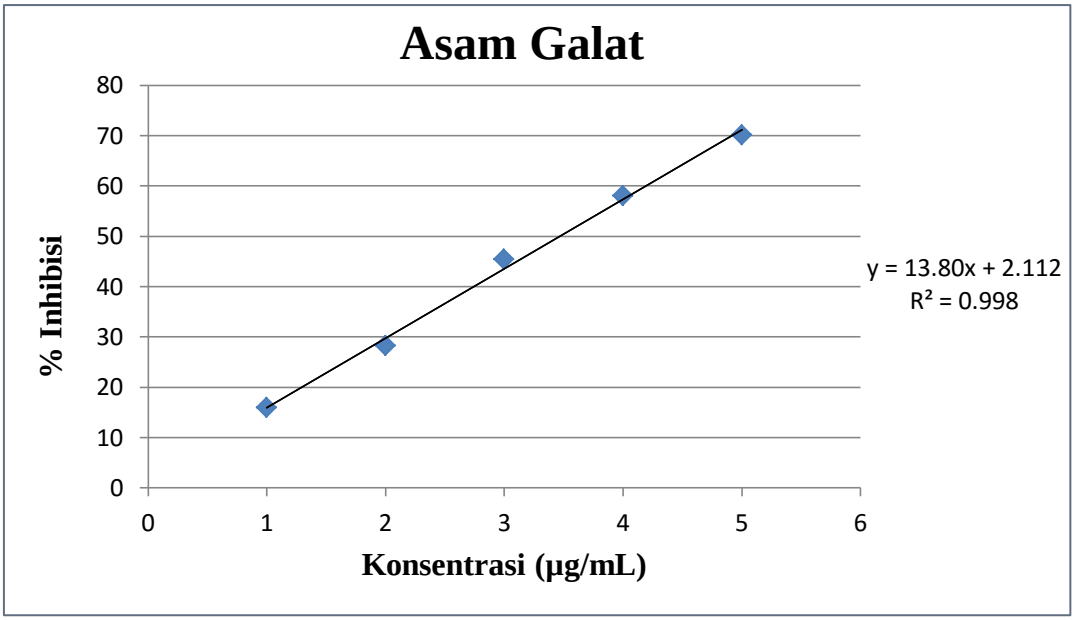
Panjang Gelombang Serapan Maksimum	Absorban
519 nm	0,672

Gambar 18. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH 35 µg/mL

Lampiran 29. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Galat

Tabel XII. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Galat

Konsentrasi (µg/mL)	Absorban Kontrol	Absorban As. Galat	%inhibisi	IC_{50} (µg/mL)
1	0,672	0,565	15,92	**3,4681**
2	0,672	0,482	28,27	
3	0,672	0,367	45,38	
4	0,672	0,282	58,03	
5	0,672	0,201	70,08	



Gambar 19. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Lampiran 30. (Lanjutan)

Contoh Perhitungan %Inhibisi dan IC_{50} Asam Galat

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \text{x}100\ \%$$

absorban kontrol = 0,672

- Konsentrasi 1 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0{,}672 - 0{,}565}{0{,}672} \text{x}100\ \% = 15{,}92\ \%$$

Mencari nilai IC_{50} dari persamaan regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi yaitu :

a = 2,112

b = 13,808

r = 0,9981

y = a + bx

50 = 2,112 + 13,808 (x)

50 – 2,112 = 13,808 (x)

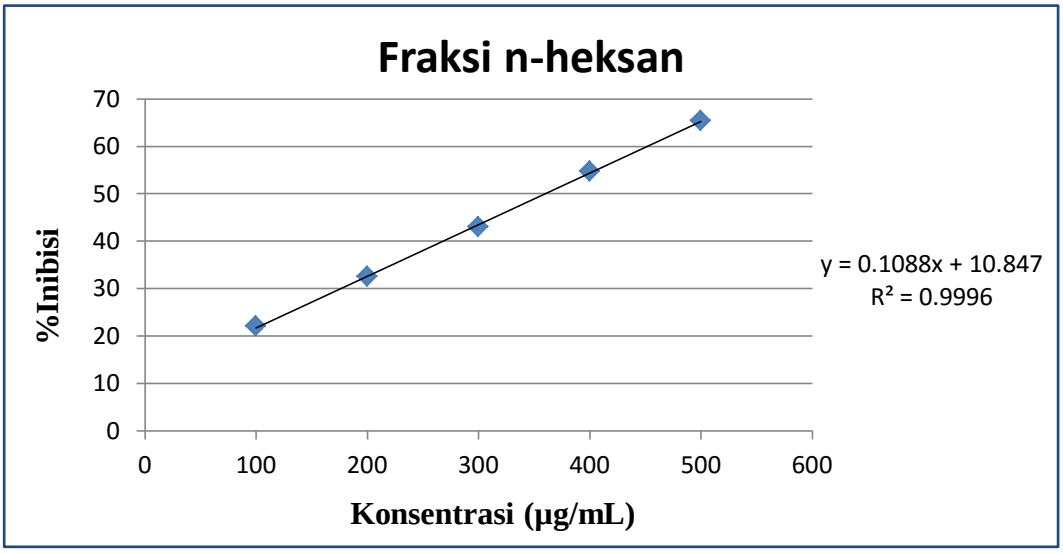
$$x = \frac{47{,}888}{13{,}808}$$

= 3,4681µg/mL

Lampiran 31. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-heksan Akar Alang-alang

Tabel XIII. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-heksan Akar Alang-alang

Konsentrasi (µg/mL)	Absorban Kontrol	Absorban Sampel	%inhibisi	IC_{50} (µg/mL)
100	0,672	0,524	22,02	**359,96**
200	0,672	0,454	32,44	
300	0,672	0,383	43	
400	0,672	0,305	54,61	
500	0,672	0,233	65,32	



Gambar 20. Kurva Kalibrasi Fraksi n-heksan Akar Alang-alang

Lampiran 32. (Lanjutan)

Contoh Perhitungan %Inhibisi dan IC_{50} Fraksi n-heksan

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

absorban kontrol = 0,672

- Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0{,}672 - 0{,}524}{0{,}672} \text{x}100\ \% = 22{,}02\%$$

Mencari nilai IC_{50} dari persamaan regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi yaitu :

a = 10,847

b = 0,10877

r = 0,9998

y = a + bx

50 = 10,847 + 0,10877 (x)

50 – 210,847 = 0,10877 (x)

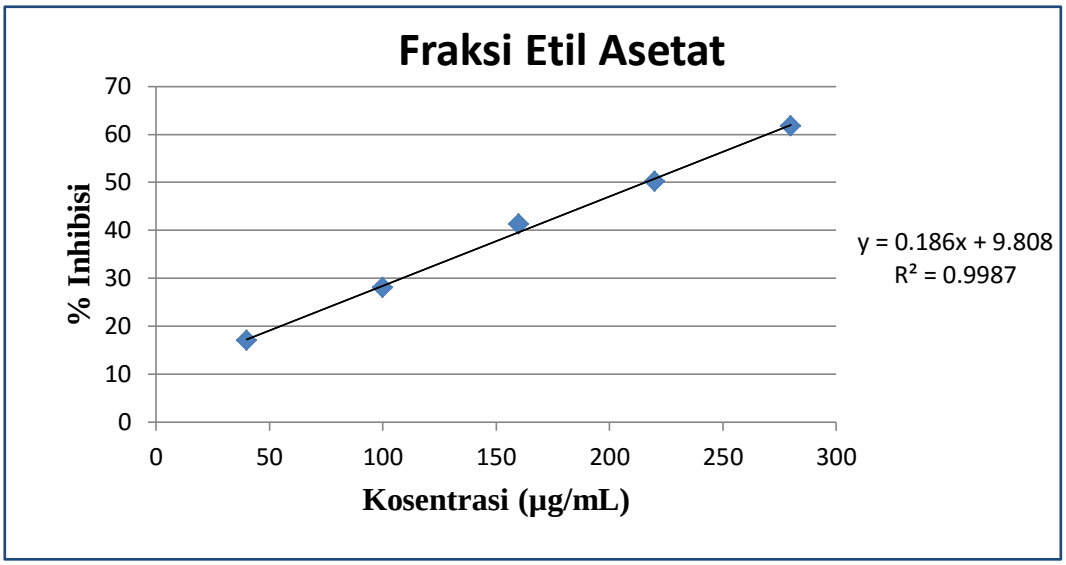
$$x = \frac{39{,}153}{0{,}10877}$$

= 359,96µg/mL

Lampiran 33. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Akar Alang-alang

Tabel XIV. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Akar Alang-alang

Konsentrasi (ppm)	Absorban Kontrol	Absorban Sampel	%inhibisi	IC_{50} (µg/mL)
40	0,672	0,558	16,96	**215,79**
100	0,672	0,484	27,97	
160	0,672	0,395	41,22	
220	0,672	0,335	50,14	
280	0,672	0,257	61,75	



Gambar 21. Kurva Kalibrasi Fraksi Etil Asetat Akar Alang-alang

Lampiran 34. (Lanjutan)

Contoh Perhitungan %Inhibisi dan IC_{50} Fraksi Etil Asetat

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \text{x}100\ \%$$

absorban kontrol = 0,672

- Konsentrasi 40 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0{,}672 - 0{,}558}{0{,}672} \text{x}100\ \% = 16{,}96\ \%$$

Mencari nilai IC_{50} dari persamaan regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi yaitu :

a = 9,808

b = 0,18625

r = 0,9987

y = a + bx

50 = 9,808 + 0,18625 (x)

50 – 9,808 = 0,18625 (x)

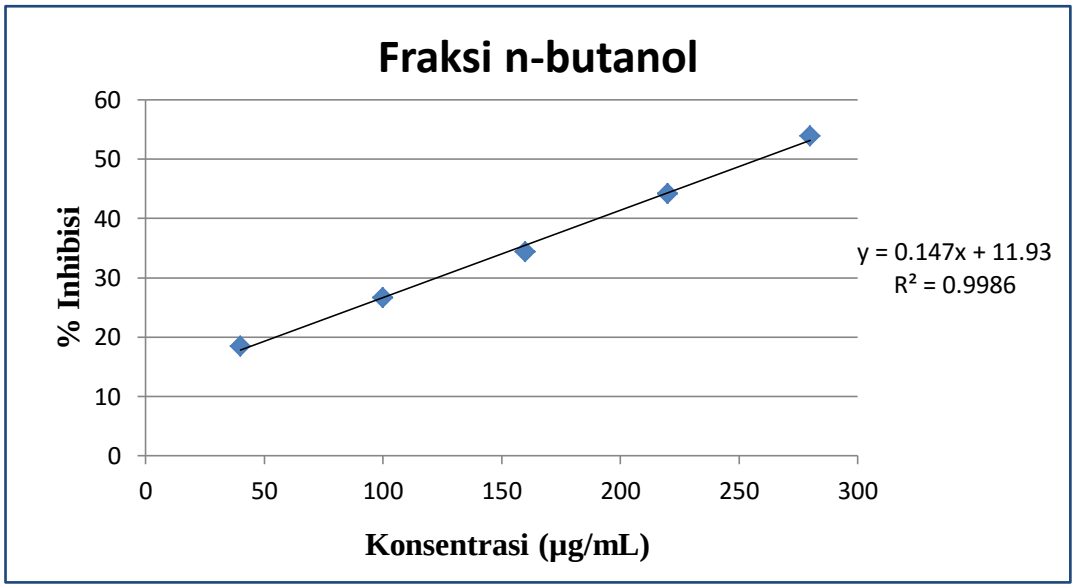
$$x = \frac{40{,}192}{0{,}18625}$$

= 215,79µg/mL

Lampiran 35. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-butanol Akar Alang-alang

Tabel XV. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-butanol Akar Alang-alang

Konsentrasi (ppm)	Absorban Kontrol	Absorban Sampel	%inhibisi	IC_{50} (µg/mL)
40	0,672	0,548	18,45	**258,43**
100	0,672	0,493	26,63	
160	0,672	0,441	34,37	
220	0,672	0,375	44,19	
280	0,672	0,310	53,86	



Gambar 22. Kurva Kalibrasi Fraksi n-butanol Akar Alang-alang

Lampiran 36. (Lanjutan)

Perhitungan %Inhibisi dan IC_{50} Fraksi n-butanol

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \text{x}100\ \%$$

absorban kontrol = 0,672

- Konsentrasi 40 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0{,}672 - 0{,}548}{0{,}672} \text{x}100\ \% = 18{,}45\ \%$$

Mencari nilai IC_{50} dari persamaan regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi yaitu :

a = 11,932

b = 0,1473

r = 0,9986

y = a + bx

50 = 11,932 + 0,1473 (x)

50 – 11,932 = 0,1473 (x)

$$x = \frac{38{,}068}{0{,}1473}$$

= 258,43µg/mL

Lampiran 37. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan dengan Pembanding

Tabel XVI. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan dengan Pembanding

Sampel	**IC_{50}**	**Kesetaraan / mg asam galat**
Asam galat	3,4681	1mg
Fraksi n-heksan	359,96	103,79 mg
Fraksi etil asetat	215,79	62,22 mg
Fraksi n-butanol	258,43	74,51 mg

Perhitungan kesetaraan antioksidan$= \frac{1 \text{ mg asam galat}}{\text{IC50 Asam Galat}}$x IC_{50}

- Perhitungan kesetaraan antioksidan fraksi n-heksan

$$= \frac{1}{3{,}4681} \text{ x } 359{,}964 \text{ mg asam galat} = 103{,}79 \text{ mg}$$

- Perhitungan kesetaraan antioksidan fraksi etil asetat

$$= \frac{1}{3{,}4681} \text{ x } 215{,}79 \text{ mg asam galat} = 62{,}22 \text{ mg}$$

- Perhitungan kesetaraan antioksidan fraksi n-butanol

$$= \frac{1}{3{,}4681} \text{ x } 258{,}43 \text{ mg asam galat} = 74{,}51 \text{ mg}$$