

ANALISIS KANDUNGAN TANIN TOTAL EKSTRAK  
DAUN MUDA JAMBU METE  
(*Anacardium occidentale* L.) SECARA  
PERMANGANOMETRI DAN PENENTUAN  
AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBASNYA

ALFIATY  
H 511 02 004



UPT PPI	
Tgl. Test	11-12-2004
Aspek Uji	Fale. MIPA
Uji	1 Satu/ES
Uji	H
Uji	848/11-12-6
Uji	35276

JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2006

**ANALISIS KANDUNGAN TANIN TOTAL EKSTRAK DAUN MUDA  
JAMBU METE (*Anacardium occidentale* L.) SECARA  
PERMANGANOMETRI DAN PENENTUAN AKTIVITAS ANTIRADIKAL  
BEBASNYA**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat  
untuk memperoleh gelar sarjana**

**ALFIATY  
H 511 02 004**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2006**

ANALISIS KANDUNGAN TANIN TOTAL EKSTRAK DAUN MUDA JAMBU  
METE (*Anacardium occidentale* L.) SECARA PERMANGANOMETRI DAN  
PENENTUAN AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBASNYA

ALFIATY

H511 02 004

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



DR. Gemini Alam, M.Si, Apt  
NIP. 131 876 917

Pembimbing Pertama,



Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si, Apt  
NIP. 131 916 413

Pembimbing Kedua,



Mufidah, S.Si, M.Si, Apt  
NIP. 132 240 180

Pada tanggal

November 2006

## DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Uraian Tumbuhan .....	4
II.1.1 Klasifikasi.....	4
II.1.2 Nama Daerah.....	4
II.1.3 Morfologi Tanaman.....	5
II.1.4 Kandungan Kimia.....	6
II.1.5 Kegunaan Tanaman.....	6
II.2 Uraian Umum Tanin .....	6
II.2.1 Tanin dan sifat kimianya.....	6
II.2.2 Tanin dalam Tanaman.....	10
II.2.3 Tanin sebagai Antioksidan .....	11
II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam .....	13

II.3.1 Definisi Ekstrak .....	13
II.3.2 Definisi Ekstraksi .....	14
II.3.3 Tujuan Ekstraksi .....	14
II.3.4 Jenis Ekstraksi .....	14
II.3.5 Cara-cara Ekstraksi .....	15
II.4 Kromatografi Lapis Tipis .....	22
II.5 Analisa Secara Permanganometri .....	23
II.6 Analisa Spektroskopi .....	25
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
III.1 Alat dan Bahan .....	29
III.2 Metode Kerja .....	29
III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel .....	29
III.2.2 Ekstraksi Sampel .....	30
III.2.3 Analisa Kualitatif .....	30
III.2.4 Analisa Kuantitatif .....	31
III.3 Prosedur Uji Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas	
DPPH .....	32
III.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM .....	32
III.3.1 Pengukuran Daya Antioksidan Ekstrak	
Jambu Mete .....	32
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
IV.1 Hasil Penelitian .....	34

IV.2 Pembahasan .....	35
BAB V Kesimpulan dan Saran.....	39
V.1 Kesimpulan .....	39
V.2 Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA .....	40
LAMPIRAN .....	43

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Harga Probit Sesuai Persentasenya.....	43
2. Nilai Rendemen Antara Berat Simplisia dan Berat Ekstrak.....	44
3. Hasil Analisis Kualitatif dari Ekstrak Daun Muda Jambu Mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) Dengan Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan Eluen Etil Asetat-Metanol-Asam asetat.....	45
4. Hasil Penentuan Kadar Tanin Total Dalam Daun Muda Jambu Mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) Secara Permanganometri.....	46
5. Hasil Pengukuran Serapan Ekstrak Daun Muda Jambu Mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) Terhadap Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas.....	47
6. Hasil Pengukuran IC <sub>50</sub> .....	49

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur tanin terhidrolisis.....	7
2. Komponen asam dari tanin terhidrolisis.....	8
3. Struktur tanin terkondensasi.....	9
4. KLT daun muda jambu mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) diamati pada sinar tampak.....	50
5. KLT daun muda jambu mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) diamati pada UV 254.....	51
6. KLT daun muda jambu mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) diamati pada UV 366.....	52
7. KLT daun muda jambu mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) diamati pada sinar tampak.....	53
8. KLT daun muda jambu mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) diamati pada UV 254.....	54
9. KLT daun muda jambu mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) diamati pada UV 366.....	55
10. Kurva serapan larutan DPPH dengan pelarut etanol absolut .....	56
11. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,05% menit ke-30.....	57
12. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,025% menit ke-30.....	58
13. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,0125% menit ke-30.....	59
14. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,00625% menit ke-30.....	60



15. Grafik hubungan antara waktu pengukuran dan aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH.....	61
16. Grafik hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-5.....	62
17. Grafik hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-15.....	63
18. Grafik hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-30.....	64
19. Grafik hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-45.....	65
20. Grafik hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-60.....	66
21. Foto bagian tanaman jambu mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.).....	67

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Analisis Kandungan Tanin Total Ekstrak Daun Muda Jambu Mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.).....	68
2. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal Bebas.....	69
3. Contoh Perhitungan Rendemen dari Ekstrak Daun Muda Jambu Mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.).....	70
4. Contoh Perhitungan Nilai Rf Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Daun Muda Jambu Mete ( <i>Anacardium occidentale</i> L.)...	71
5. Perhitungan Persamaan Garis Regresi Linear .....	72
6. Contoh Perhitungan Kadar Tanin Total Dalam Ekstrak Metanol 50% dari Tiga Daerah Berbeda.....	74

## ABSTRAK

Secara empiris, daun muda jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) telah digunakan sebagai obat oleh masyarakat untuk diare, disentri dan radang gusi yang diprediksi berhubungan dengan komponen tanin. Daun *A. occidentale* diperoleh dari Makassar, Pangkep dan Gowa. Tanin telah dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sampel pada Kromatografi Lapis Tipis mengandung bercak yang memiliki persamaan profil dengan asam tanat meskipun nilai Rfnya berbeda. Analisis kuantitatif tanin dengan permanganometri mengindikasikan bahwa tanin total daun muda jambu mete (*A. occidentale*) dari Makassar, Pangkep dan Gowa adalah 76,67 mg/g ekstrak, 67,33 mg/g ekstrak dan 69 mg/g ekstrak. Untuk uji Pengikatan radikal bebas digunakan ekstrak metanol yang mempunyai kadar tanin paling tinggi, yaitu ekstrak dari Makassar. Aktivitas ditunjukkan dengan  $IC_{50}$  (Inhibit concentration) radikal bebas DPPH (2,2-difenil -1-pikril hidrazil) yaitu 467,7  $\mu$ g/ml (menit ke-5), 322,1  $\mu$ g/ml (menit ke-15), 238,7  $\mu$ g/ml (menit ke-30), 246,6  $\mu$ g/ml (menit ke 45) dan 199,4  $\mu$ g/ml (menit ke-60). Analisis statistika dengan metode faktorial menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak dan waktu pengukuran berpengaruh sangat nyata terhadap persen pengikatan radikal bebas.

Kata kunci : Daun jambu mete, kadar tanin, radikal bebas

## ABSTRACT

Empirically, the leaves of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) have been used as folk medicine for diarrhea, dysentery and swelling gum that predicted related to tanin content. The leaves were got from Makassar, Pangkep and Gowa. The tanin have been analyzed qualitatively and quantitatively. The result investigation indicated that all of sample was showed a tanin spot on TLC with the same visual with tanic acid although the Rf was different. Quantitative analysis of tanin with permanganomethric indicated that tanin total of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) from Makassar Pangkep and Gowa were 76,67 mg/g extract, 67,33 mg/g extractand 69 mg/g extract respectively. For scavengering free radical test was used methanolic extract with highest tanin level i.e extract from Makassar. The activity of extract showed by IC<sub>50</sub> value toward DPPH free radical i.e. 467,7  $\mu$ g/ml (5<sup>th</sup> minutes), 322,1  $\mu$ g/ml (15<sup>th</sup> minutes ), 238,7  $\mu$ g/ml (30<sup>th</sup> minutes), 246,6  $\mu$ g/ml (30<sup>th</sup> minutes ) dan 199,4  $\mu$ g/ml (30<sup>th</sup> minutes). Statistical analysis with factorial design showed that scavenged free radical percentage was very significantly interfered by extract concentration and time measurement.

Key words : Cashew leaves, tanin level, free radical.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah, tiada kata yang paling indah selain puji syukur atas hadirat ALLAH SWT atas selesainya penyusunan Skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.

Begitu banyak kendala yang penulis hadapi mulai dari penelitian sampai pada penyusunan skripsi ini namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak akhirnya proses ini dapat dilalui. Dengan kerendahan hati penulis menghaturkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Bapak DR. Gemini Alam, M.Si, Apt selaku pembimbing utama dan pembimbing akademik, Bapak Drs. Syaharuddin Kasim M.Si, Apt, selaku pembimbing pertama, Ibu Mufidah S.Si, M.Si, Apt, selaku pembimbing kedua, yang dengan kesabaran dan ketulusan hati memberikan petunjuk, meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing penulis selama penyusunan Skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan FMIPA UNHAS, Ketua Jurusan Farmasi, Dosen-Dosen Farmasi UNHAS, beserta seluruh staf dan atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan Skripsi ini.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Kak Rahim, S.Si, Apt atas kesabarannya selama ini dalam membantu dan menghadapi penulis dalam pelaksanaan penelitian, Pak Suaib dan Ibu Adri atas bantuannya selama ini.

Terkhusus juga kepada teman-teman seperjuangan Farmasi Angkatan 2002, atas kemanisan dan kekompakan "Style no.1". Partnerku Ida wahyuni, teman-teman terbaikku Yulia Salam, Nirwana, Dewi Sartika, Nety DK, Ruhama UT, Astria A., Nur Afriyanti, Risnah, Suryani, Yurisa, Asmin A., Ratna A., para pejuang sejati di Lab. Fito( Pusvita, Jelniati L., Elviyansi, Ariastuty W., Magfirah, Widya K., Sri Dian)

Skripsi ini penulis persembahkan kepada kedua orang tua tercinta Muh. Alik dan Nely yang dengan kesabarannya telah mendidik dan membesarkan dengan penuh kasih sayang serta memberikan dorongan moril dan materil sehingga pendidikan dapat terselesaikan. Kepada adik-adikku tersayang Abda Alief dan Wahida Alief atas dukungannya selama ini. Anugerah terindah, *060301 U are my everything*

Akhirnya semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, Agustus 2006

Penulis

## BAB I

### PENDAHULUAN

Tumbuhan sebagai obat tradisional telah banyak digunakan untuk pemeliharaan kesehatan, pengobatan maupun kecantikan. Dunia kedokteran pun banyak kembali mempelajari obat-obat tradisional dan hasilnya mendukung bahwa tanaman obat memang memiliki kandungan zat-zat yang secara klinis terbukti bermanfaat bagi kesehatan. Untuk itu pemeriksaan komponen kimia setiap tumbuhan sangatlah penting untuk mencari bahan aktif obat dan kadarnya (1).

Perkembangan pengobatan tradisional kedokteran Timur telah sejalan dengan perkembangan kedokteran Barat yang telah diakui dunia Internasional, misalnya dengan pengakuan badan kesehatan dunia (WHO). Lebih lanjut, pengobatan dengan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat bahkan telah mencapai perkembangan yang ditandai dengan adanya perguruan-perguruan tinggi internasional yang mengkhususkan pada pemikiran pengembangan obat dan pengobatan secara teoritis maupun praktis klinis. Perkembangan seperti inilah yang hendak dicapai di Indonesia yang merupakan negara yang sangat kaya akan flora dan fauna. Diantara kekayaan flora (tumbuh-tumbuhan) tersebut, banyak diantaranya yang masuk kategori tanaman obat, ini sudah dimanfaatkan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad lalu (2).

Pemanfaatan tanaman untuk mengobati suatu penyakit sudah bukan rahasia lagi, salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang berasal dari suku *Anacardiaceae* (3). Tumbuhan ini bermanfaat dalam mengobati diabetes mellitus, disentri, radang mulut, sakit gigi (4), juga memiliki khasiat sebagai antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor (5). Dari penelitian telah diketahui bahwa ekstrak tumbuhan ini mempunyai aktivitas anti bakteri, antijamur, antivirus, antiinflamasi, efek hipoglikemia, antikanker, efek sedatif, efek analgetik, sebagai obat rematik dan obat liver (6).

Salah satu kandungan kimia dari daun *A. occidentale* adalah tanin (3). Efek farmakologinya adalah mengobati diare dengan kemampuannya menyembuhkan iritasi usus melalui aksi adstrigennya yaitu dengan menciutkan selaput lendir usus. Tanin tidak menurunkan peristaltik secara langsung tetapi secara tidak langsung dengan menyembuhkan tempat peradangan (7). Kristiana, (1998) telah melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *A. occidentale* dapat menghambat terjadinya diare terhadap mencit (8). Selain itu tanaman ini juga mengandung senyawa flavanoid, asam anacardol, asam elegant, fenol kardol, metil kardol dan zat samak (9).

Permasalahan yang ditemukan adalah berapa kadar tanin yang terdapat dalam daun muda *A. occidentale* yang tumbuh pada tempat yang berbeda dan apakah ekstrak dengan kandungan tertinggi memiliki aktivitas antiradikal. Berdasarkan hal tersebut, dilakukan penelitian



dengan tujuan untuk menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif kandungan tanin yang terdapat dalam daun muda *A. occidentale* yang berasal dari 3 lokasi berbeda yang dilanjutkan dengan penentuan aktivitas antiradikal bebas. Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu parameter komponen kimia dalam penyiapan ekstrak terstandar dalam meningkatkan mutu obat tradisional menuju sediaan fitofarmaka.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman

##### II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tanaman *A.occidentale* menurut Taksonomi Tumbuhan

Obat-obatan adalah sebagai berikut : (10)

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Sub Class	: Dialypetalae
Ordo	: Sapindales
Familia	: Anacardiaceae
Genus	: Anacardium
Spesies	: <i>Anacardium occidentale</i> L.

##### II.1.2 Nama Daerah

*A.occidentale* memiliki beberapa nama daerah yang berbeda-beda sebagai berikut :

Sunda	: Jambu mede (3)
Lampung	: Gaju (3)
Jawa	: Jambu mete, Jambu monyet (11)
Bali	: Jambu dwipa atau Jambu Jipang (11)
Manado	: Buah yaki (11)

Minangkabau : Jambu erang (11)

Bugis : Jampu semeng (11)

### II.1.3 Morfologi Tanaman

Tanaman *A. occidentale* mempunyai sistem perakaran yang terdiri dari akar tunggang dan beberapa akar yang tumbuhnya ke samping serta akar-akar yang tumbuh secara vertikal ke bawah di sekitar akar tunggang. Tinggi tanaman *A. occidentale* dapat mencapai 8-12 meter. Batangnya berkayu, tumbuhnya tegak, penampang melintang bulat dan permukaan kulit agak kasar berwarna coklat tua (12)

Daunnya bertangkai pendek, berbentuk lonjong dengan tepian berlekuk dan guratan rangka daunnya terlihat jelas (12). Daun berwarna coklat kemerah-merahan pada waktu masih muda dan menjadi hijau cerah setelah tua. Ukuran daun bervariasi dengan panjang 7-20 cm dan lebar 4-12 cm. (13)

Bunganya berwarna merah muda kekuning-kuningan, tergolong sebagai bunga majemuk yang tersusun dalam suatu karangan bunga dengan daun penunjang yang lebar dan terletak pada ujung-ujung ranting dan ketiak daun. Panjang karangan bunga terdiri atas bunga jantan dan bunga sempurna (13)

Buah terdiri atas buah sejati dan buah semu. Buah sejati berbentuk ginjal berukuran 3 cm, bijinya berkeping dua dan terbungkus kulit yang mengandung getah (12). Kulit buah berwarna abu-abu. Buah semu berasal dari perbesaran tangkai buah, yang membesar setelah buah sejati

tumbuh sempurna tetapi belum masak. Buah berbentuk pear dengan kulit yang berlilin dan berwarna merah, kuning atau merah kekuningan. Daging buah berwarna kuning, tebal, lunak dan seperti bunga karang, berair (juicy), berserat, rasanya sepat, asam dan agak asam (13).

#### **II.1.4 Kandungan Kimia**

*A.occidentale* mengandung senyawa kimia seperti tanin, anacardic dan cardol, vitamin A , Vitamin C, kalori, protein, lemak, hidrat arang, kalsium, fosfor, besi dan air (4). Biji dari *A.occidentale* mengandung minyak acayou yang bermutu tinggi sebagai minyak goreng (10).

#### **II.1.5 Kegunaan Tanaman**

Sebagian besar bagian dari tanaman *A.occidentale* dimanfaatkan dalam pengobatan diantaranya adalah sebagai berikut :

Kulit kayunya digunakan sebagai antidiare, pengobatan disentri, diabetes mellitus, obat kumur dan obat jerawat (4,10). Daunnya digunakan untuk pengobatan sakit gigi, disentri dan radang mulut (4). Bunganya digunakan untuk obat batuk (12). Buahnya digunakan untuk obat *Ulcus duodeni*, penyakit gatal dan bisul (10). Bijinya sebagai obat asma (12)

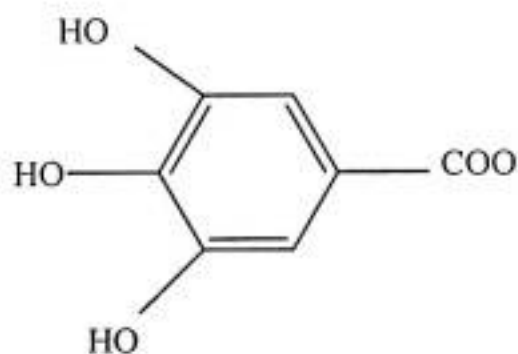
### **II.2 Uraian Umum Tanin**

#### **II.2.1 Tanin dan Struktur Kimianya**

Tanin merupakan senyawa alami dengan bobot molekul antara 500 sampai 3.000, serta memiliki sejumlah gugus hidroksi fenolik (1-2 tiap 100 satuan bobot molekul) dan dapat membentuk ikatan silang yang stabil

dengan protein dan biopolimer lain, misalnya selulosa dan pektin (14). Tanin sangat mudah larut dalam air dan etanol, kurang larut dalam etanol mutlak, larut dalam aseton, praktis tidak larut dalam benzena, dalam kloroform dan dalam eter (15).

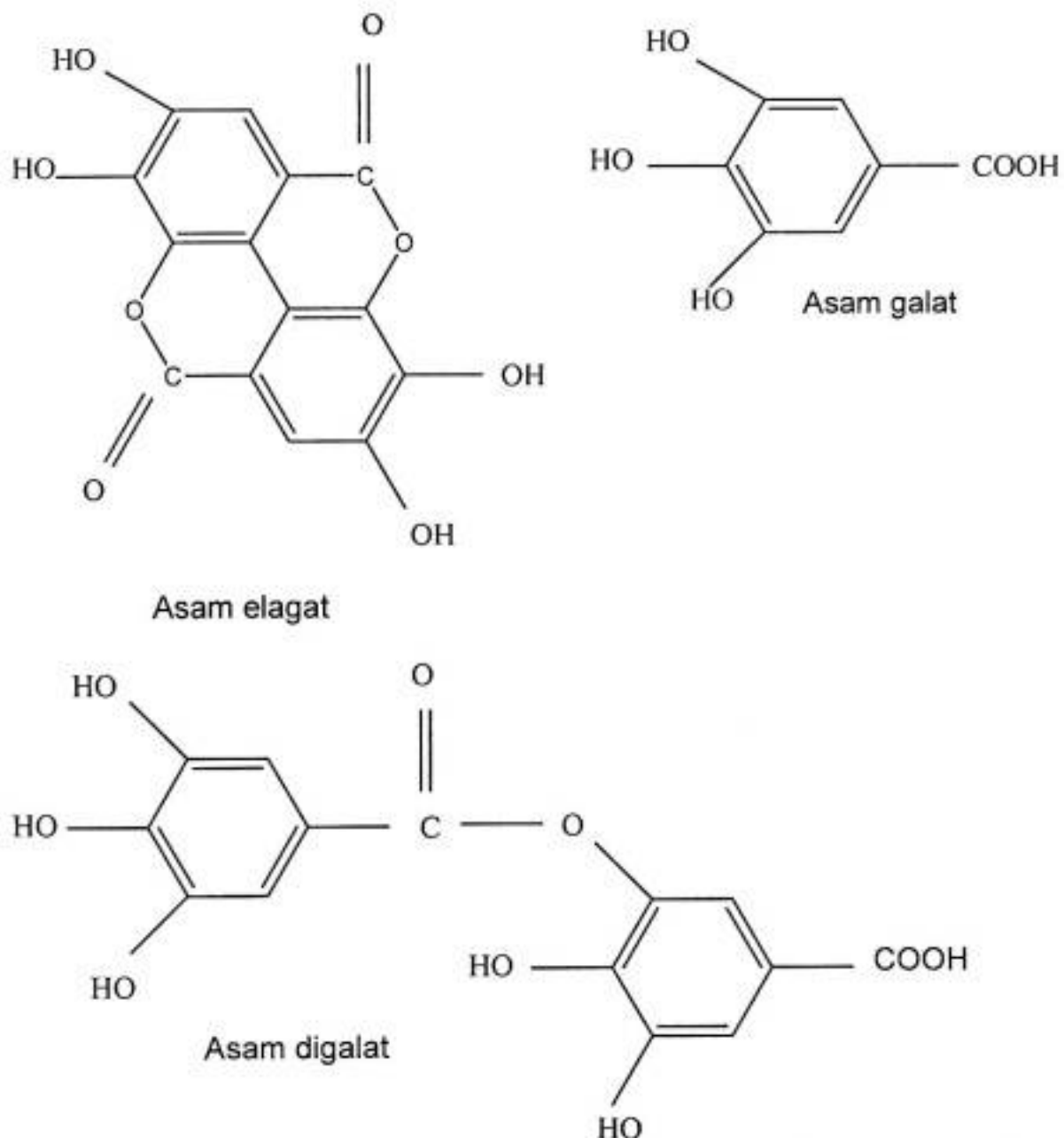
Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (16).



Gambar.1 Tanin terhidrolisis

Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (17). Semua tanin yang dapat dihidrolisis berasal dari esterifikasi secara progresif gugus-gugus hidroksil dari gula, oleh asam galat atau asam poligalat. Tanin yang terhidrolisis tersebar luas dalam jaringan tumbuhan, terutama dalam *gall*, yaitu pertumbuhan tidak normal dari sel-sel atau jaringan tumbuhan, yang terbentuk seperti hipertropi atau neoplasma sejati. Penyebab terjadinya *gall* yaitu bakteri, lumut, nematoda dan serangga (14). Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning

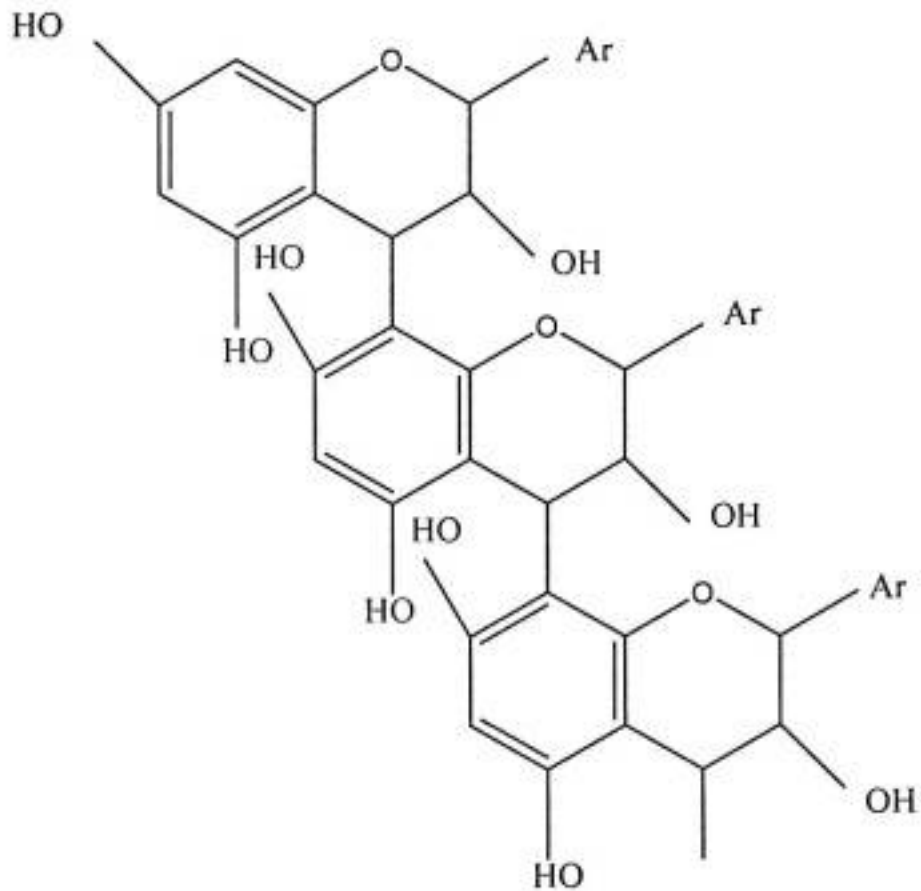
yang larut dalam air (terutama air panas) membentuk larutan koloid bukan larutan sebenarnya (17).



Gambar 2. Komponen asam dari tanin terhidrolisis

Tanin yang dapat terhidrolisis dibagi-bagi menjadi golongan-golongan menurut asam-asam yang ada. Galotanin hanya menghasilkan asam galat bila dihidrolisis dan elagitanin juga asam elagat. Asam elagat

merupakan artefak yang berasal dari laktonisasi ganda dan apotan dari asam heksahidrofenat alami (14).



Gambar 3. Tanin terkondensasi

Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal atau galokatekin yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang tinggi. Ikatan karbon-karbon menghubungkan satu satuan flavon dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4-8 atau 6-8. kebanyakan flavolan mempunyai 2 sampai 20 satuan flavon. Nama lain untuk tanin terkondensasi ialah proantosianidin karena bila direaksikan dengan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon-karbon penghubung satuan terputus dan dibebaskanlah monomer antosianidin (16). Tanin

terkondensasi bila dihidrolisis tidak menghasilkan senyawa dengan bobot molekul rendah, tetapi suatu zat amorf dan tidak larut, seringkali berwarna merah, disebut flobafen (14).

## **II.2.2 Tanin dalam Tanaman**

Tanin banyak terdapat dalam tanaman angiospermae atau tumbuhan tinggi khususnya pada kelas dikotil dibandingkan tumbuhan rendah seperti jamur dan ganggang. Pada pertumbuhan tanaman, tanin secara utama terdapat pada cairan dalam vakuola sebagai sel dan sedikit pada protoplasma, tanin biasanya terabsorpsi ke dalam sel (19). Menurut batasannya tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air. Dalam industri, tanin adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mampu mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambungkan silang protein. Di dalam tumbuhan letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tapi bila jaringan rusak, misalnya bila hewan memakannya, maka reaksi penyamakan dapat terjadi. Reaksi ini menyebabkan protein lebih sukar dicapai oleh cairan pencernaan hewan. Pada kenyataannya, sebagian besar tumbuhan yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan, karena rasanya sepat. Kita menganggap salah satu fungsi utama tanin dalam tumbuhan ialah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (16).

Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan. Tanin terkondensasi hampir terdapat



semesta di dalam paku-pakuan dan gymnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sebaliknya tanin yang terhidrolisakan penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua (16).

### **II.2.3 Tanin Sebagai Antioksidan**

Beberapa tanin terbukti sebagai antioksidan (17), karena ditemukannya senyawa poliphenol. Senyawa poliphenol inilah yang disarankan oleh para ahli sebagai zat antioksidan yang diperoleh secara alami sebagai pengganti zat antioksidan sintetis (20).

Pada banyak proses metabolisme di dalam tubuh terbentuk radikal bebas ("Free Radika"), yakni molekul-molekul yang sangat reaktif karena kehilangan satu elektron. Hal ini juga terjadi ketika granulosit neutrofil meningkatkan metabolisme oksidatifnya, dimana dibebaskan produk oksigen aktif, seperti hidrogenperoksida, oksigen singlet ( $O_2$ ), anion superoksida ( $O_2^-$ ), dan radikal hidroksi ( $OH^\cdot$ ). Radikal bebas ini memasuki dan "meloncat-loncat" di dalam sel-sel sambil mengambil elektron dari molekul lain, yang terpaksa berbuat sama yang mampu merusak langsung bagian vital dari sel (DNA) atau secara tidak langsung melalui peroksidasi lipida dari membran sel. Reaksi rantai ini akan berlangsung terus menerus bila tidak dihentikan oleh antioksidan (20).

Zat-zat yang memiliki sifat antioksidan adalah senyawa poliphenol, indol, monoterpen, katekin, enzim, flavonoida dan karotenoida (20). Senyawa poliphenol mampu menghambat reaksi oksidasi melalui

mekanisme penangkapan radikal (*radikal scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (21). Antioksidan sintetik seperti BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluen), PG (propil galat), dan TBHQ (tetra-butyl hidrokinon) dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan (22).

Antioksidan terdapat secara alamiah dalam lemak nabati. Ada dua macam antioksidan yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder.

#### a. Antioksidan primer (23)

Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Zat-zat yang termasuk dalam golongan ini adalah yang berasal dari alam dan dapat pula buatan, antara lain ; tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, dan asam askorbat. Antioksidan sintetik yang banyak digunakan sekarang adalah senyawa-senyawa fenol yang biasanya agak beracun. Karena itu, penambahan antioksidan ini harus memenuhi beberapa syarat, misalnya tidak berbahaya bagi kesehatan, tidak menimbulkan warna yang tidak diinginkan, efektif pada konsentrasi rendah, larut dalam lemak, mudah didapat, dan ekonomis. Empat macam antioksidan yang sering digunakan pada bahan makanan adalah *Butylated hydroxyanisole* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *Propylgallate* (PG), dan *Nordihydroquairitic acid* (NDGA).

## b. Antioksidan sekunder (23)

Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan sehingga dapat digolongkan sebagai sinergik. Beberapa asam organik tertentu, biasanya asam di- atau trikarboksilat, dapat mengikat logam-logam (sequistran). Misalnya satu molekul asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe seperti sering dilakukan pada minyak kacang kedelai. EDTA (Etilendiamin tetraasetat) adalah sequistran logam yang sering digunakan dalam minyak salad.

## II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam

### II.3.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengeskraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung (24), kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (15).

### II.3.2 Defenisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian komponen kimia atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis hewan termasuk biota laut. Komponen kimia yang terdapat pada tanaman, hewan dan beberapa jenis ikan pada umumnya mengandung senyawa-senyawa yang mudah larut dalam pelarut organik. Pelarut organik yang paling umum digunakan

untuk mengekstraksikan komponen kimia dari sel tanaman adalah methanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat.

Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. (25)

### **II.3.3 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik bahan atau zat-zat yang dapat larut dalam bahan yang tidak larut dengan menggunakan pelarut cair (25)

### **II.3.4 Jenis Ekstraksi**

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah : (25)

- a. Secara panas seperti refluks dan destilasi uap air karena sampel langsung dipanaskan dengan pelarut; dimana umumnya digunakan untuk sampel yang mempunyai bentuk dan dinding sel yang tebal. Metode ekstraksi secara panas digunakan untuk sampel yang tahan panas dan mempunyai tekstur yang keras seperti batang, akar, biji.
- b. Secara dingin misalnya maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Dimana untuk maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia, sedangkan soxhlet dengan cara cairam penyari

dipanaskan dan uap cairan penyari naik ke kondensor kemudian terjadi kondensasi dan turun menyari simplisia. Ekstraksi secara dingin digunakan untuk sampel yang lunak, tidak tahan panas, tidak mudah mengembang dalam cairan penyari.

### **II.3.5 Cara-cara Ekstraksi**

#### **II.3.4.1. Maserasi (25)**

Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya.

Metode ini dilakukan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang seperti benzoin, tiraks, dan lilin.

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok (4/18) kedalam sebuah bejana, ditambahkan dengan 75 bagian penyari, dan ditutup, serta dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk, diserkai dan peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya sampai diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari. Endapan yang terbentuk dipisahkan dan dipisahkan.

Ada beberapa modifikasi metode maserasi antara lain:

- 1) Modifikasi digesti, yaitu maserasi yang dilakukan dengan menggunakan pemanasan lemah, pada suhu antara 40-50 °C terutama untuk sampel yang mengandung komponen kimia yang tahan pemanasan.
- 2) Modifikasi dengan menggunakan mesin pengaduk yang ditujukan untuk mempercepat penyarian.
- 3) Ramaserasi adalah penyarian yang dilakukan setelah penyarian pertama selesai, diperas dan ditambahkan lagi larutan penyari.
- 4) Maserasi melingkar adalah penyarian yang dilakukan dengan cairan penyari yang selalu bergerak dan menyebar sehingga kejenuhan cairan penyari dapat merata.

*Keuntungan* penyarian maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

*Kerugian* cara maserasi adalah pengerjaan lama dan penyarian kurang sempurna.

#### II.3.4.2. Perkolasi (25)

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip ekstraksi dengan perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sample dalam

keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan tekanan penyari dari cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan ke bawah.

Dikenal ada tiga macam bentuk perkolator:

- a. Perkolator bentuk tabung
- b. Perkolator bentuk paruh
- c. Perkolator bentuk corong

Cara perkolasi lebih baik dari cara maserasi karena :

- a. Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.
- b. Ruangan di antara serbuk-serbuk simplisia membentuk aliran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

Kekurangannya adalah bentuk perkolator yang digunakan harus disesuaikan dengan sifat ekstraknya.

#### II.3.4.3 Soxhletasi (25)

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon. Proses ini

berlangsung hingga penyarian zat aktif sempurna yang ditandai dengan beningnya cairan penyari yang melalui pipa sifon atau jika diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis tidak memberikan noda lagi.

Metode soxhletasi bila dilihat secara keseluruhan termasuk cara panas, namun proses ekstraksinya secara dingin, sehingga metode soxhlet digolongkan dalam cara dingin.

Sampel atau bahan yang akan diekstraksi terlebih dahulu diserbukkan dan ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam klongsong yang telah dilapisi dengan kertas saring sedemikian rupa (tinggi sample dalam klongsong tidak boleh melebihi pipa sifon). Selanjutnya labu alas bulat diisi dengan cairan penyari yang sesuai kemudian ditempatkan di atas water bath atau hiting mantel dan diklem dengan kuat kemudian klongsong yang telah diisi sample dipasang pada labu alas bulat yang dikuatkan dengan klem dan cairan penyari ditambahkan untuk membasahkan sample yang ada dalam klongsong. Setelah itu kondensor dipasang tegak lurus dan diklem pada statif dengan kuat. Aliran air dan pemanas dijalankan hingga terjadi proses ekstraksi zat aktif sampai sempurna (biasanya 20-25 kali sirkulasi). Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotavapor.

*Keuntungan soxhletasi :*

- 1) Cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit, dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat.



- 2) Serbuk simplisia disari oleh cairan penyari yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak.
- 3) Penyarian dapat diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari.

*Kerugian soxhletasi :*

- 1) Larutan dipanaskan terus-menerus, sehingga zat aktif yang tidak tahan panas kurang cocok. Ini dapat diperbaiki dengan menambahkan peralatan untuk mengurangi tekanan udara.
- 2) Cairan penyari dididihkan terus-menerus, sehingga cairan penyari yang baik harus murni atau campuran azeotrop.

#### II.3.4.4. Refluks (25)

Cara ini termasuk cara ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dalam cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan pendingin tegak, kemudian dipanaskan sampai mendidih cairan penyari akan menguap, uap tersebut diembunkan oleh pendingin tegak dan turun kembali menyari zat aktif dalam simplisia demikian seterusnya. Ekstraksi secara refluks biasanya dilakukan selama 3 x 4 jam.

Simplisia yang biasa diekstraksi adalah simplisia yang mempunyai komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan dan mempunyai tekstur yang keras seperti akar, batang, biji dan herba.

Serbuk simplisia atau bahan yang akan diekstraksi secara refluks ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan

ditambahkan pelarut organik misalnya metanol sambil serbuk simplisia terendam kurang 2 cm di atas permukaan simplisia atau  $\frac{2}{3}$  dari volume labu, kemudian labu alas bulat dipasang kuat pada statif pada water bath atau hitting mantel, lalu kondensor dipasang pada labu alas bulat yang dikuatkan dengan klem dan statif. Aliran air dan pemanas dijalankan sesuai dengan suhu pelarut yang digunakan. Setelah 4 jam dilakukan penyaringan, filtratnya ditampung dalam wadah penampung dan ampasnya ditambah lagi pelarut dan dikerjakan seperti semula, ekstraksi dilakukan 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotavapor.

#### II.3.4.5. Destilasi Uap Air (25)

Metode destilasi uap air diperuntukkan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal. Pada metode ini uap air digunakan untuk menyari simplisia dengan adanya pemanasan kecil uap air tersebut menguap kembali bersama minyak menguap dan dikondensasikan oleh kondensor sehingga terbentuk molekul-molekul air yang menetes ke dalam corong pisah penampung yang telah diisi air. Penyulingan dilakukan hingga sempurna.

Sampel yang akan diekstraksi direndam dalam gelas kimia selama 2 jam setelah itu dimasukkan ke dalam bejana B, bejana A diisi air dan pipa-pipa penyambung serta kondensor dan penampung corong pisah dipasang dengan kuat. Api Bunsen bejana A dinyalakan sehingga airnya

mendidih dan diperoleh uap air yang selanjutnya masuk ke dalam bejana B melalui pipa penghubung untuk menyari sample dengan adanya bantuan api kecil pada bejana B, minyak menguap yang telah tersari selanjutnya menguap menuju kondensor, karena adanya pendinginan balik uap dari minyak menguap ini mengalami yang menetes ke dalam corong pisah penampung yang telah berisi air.

#### II.3.4.6 Ekstraksi Cair-cair (25)

Ekstraksi cair-cair biasa juga disebut sebagai metode corong pisah. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Waktu yang diperlukan untuk tercapainya kesetimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran keduanya dalam corong pisah.

Pelarut yang mudah menguap tidak dicampur dengan fase air yang panas (atau bahkan hangat). Hal ini dapat menyebabkan peningkatan tekanan uap sangat besar yang dihasilkan sehingga tutup corong pisah terbang dan isinya tersemprot keluar. Hal ini dapat juga terjadi dengan cairan dingin jika terjadi reaksi eksotermis missal pencampuran asam dan basa, pengenceran asam-asam kuat.

Beberapa fase organik mudah membentuk emulsi dengan fase air, khususnya jika terdapat partikel kecil atau terbentuk oleh pengendapan.

Kelarutan senyawa tidak bermuatan dalam satu fase pada suhu tertentu tergantung pada kemiripan kepolarannya dengan fase cair, menggunakan prinsip "like dissolve like". Molekul bermuatan yang memiliki afinitas tinggi terhadap cairan dengan sejumlah besar ion bermuatan berlawanan dan juga dalam kasus ini menarik yang berlawanan"misalnya senyawa asam akan lebih larut dalam fase air yang basa daripada yang netral atau asam. Ratio konsentrasi senyawa dalam kedua fase disebut koefisien partisi. Senyawa yang berbeda akan mempunyai koefisien partisi yang berbeda, sehingga jika satu senyawa sangat polar, koefisien partisi relatifnya ke fase polar lebih tinggi daripada senyawa nonpolar.

#### **II.4 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat dengan menggunakan zat penjerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca (26).

Kromatografi lapis tipis adalah kromatografi cairan-cairan dimana sebagai fase diam adalah lapisan tipis air yang diserap dari lembab udara oleh lempeng gelas atau aluminium yang dilapisi dengan lapisan tipis alumina, silika gel atau bahan serbuk lainnya (26). Kecepatan KLT yang lebih besar disebabkan oleh sifat penjerap yang lebih padat bila disapukan pada pelat (16).

Deteksi senyawa pada plat KLT biasanya dilakukan dengan penyemprotan dan karena permukaan pelat yang lebih sempit (20 X 20 cm), maka penyemprotannya merupakan prosedur nisbi sederhana (16).

Prinsip KLT adalah pemisahan secara fisikokimia. Lapisan yang memisahkan yang terdiri dari bahan yang berbutir-butir (fase diam), ditempatkan dalam penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah plat atau lapisan ditaruh di dalam bejana yang ditutup rapat berisi fase gerak, pemisahan terjadi selama pengembangan. Senyawa berwarna terdeteksi (27).

Penyerap umum yang digunakan adalah silica gel, aluminium oksida, kieselguhr, selulosa dan turunannya, poliamida, dan lain-lain. Silica gel adalah penyerap yang banyak digunakan karena mempunyai pemisahan yang baik. Zat penyerap dilapiskan secara merata pada penyangga dengan ketebalan lapisan antara 0,1-0,3 mm. Pemisahan suatu senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis tergantung pada jenis pelarut, zat penyerap, dan sifat daya serap masing-masing komponen. Komponen yang terlarut akan terbawa fase diam (penyerap) dengan kecepatan Bergeraknya komponen terlarut dalam fase gerak (27).

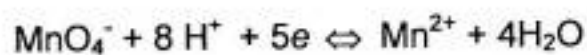
## **II. 5 Analisis Secara Permanganometri**

Salah satu pemeriksaan kimia adalah titrimetri, yakni penetapan jumlah zat yang didasarkan pada pengukuran volume larutan pereaksi yang dibutuhkan untuk bereaksi secara stoikiometri dengan zat yang ditentukan. Pada proses titrasi, pentiter (larutan baku) ditambahkan ke dalam larutan zat (sampel) yang akan ditentukan dengan bantuan alat

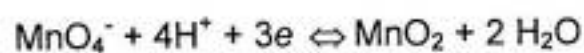
yang disebut buret sampai mencapai titik kesetaraan. Dengan mengetahui volume kesetaraan, kadar pentiter dan faktor stoikiometri, maka jumlah zat yang akan ditentukan dapat dihitung (28).

Oksidasi adalah hilangnya satu atau lebih elektron oleh atom, ion atau molekul, sedang reduksi adalah memperoleh elektron (29). Prinsip dari metode permanganometri didasarkan atas oksidasi ion permanganat. Oksidasi ini dapat dijalankan dalam suasana asam, netral maupun alkalis (29).

Kalium permanganat digunakan secara luas sebagai pereaksi oksidasi. Satu tetes kalium permanganat 0,1 N memberikan suatu warna merah muda yang jelas kepada volum larutan yang biasanya digunakan dalam suatu titrasi. Warna ini digunakan untuk menunjukkan kelebihan pereaksi. Permanganat mengalami reaksi kimia yang bermacam-macam, reaksi-reaksi ini diikhtisarkan sebagai berikut :



Ini sebuah reaksi yang berlangsung dalam larutan-larutan yang sangat berasam (0,1 N atau lebih).



Reaksi ini berlangsung dalam larutan dengan pH lebih rendah.



Reaksi ini terjadi hanya terjadi dalam larutan alkali (29).

## II.6 Analisis Spektroskopi

Istilah spektrofotometri mengingatkan pengukuran berapa jauh energi radiasi diserap oleh suatu sistem sebagai fungsi panjang gelombang tertentu (29).

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitans atau serapan suatu contoh sebagai fungsi panjang gelombang, pengukuran terhadap suatu deretan contoh pada suatu panjang gelombang tunggal mungkin juga dapat dilakukan (29).

Spektrofotometri dapat dibayangkan sebagai suatu perpanjangan dari penilaian visual dimana studi yang lebih terinci mengenai penyerapan energi cahaya oleh species kimia memungkinkan kecermatan lebih besar dalam pencirian dan pengukuran kuantitatif. Jika suatu molekul mengandung sebuah atom seperti klor yang mempunyai pasangan elektron menyendiri, sebuah electron tak terikat (non bonding) dapat dieksitasikan ke tingkat energi yang lebih tinggi. Karena elektron non-bonding tak terikat terlalu kuat seperti elektron bonding sigma, maka adsorpsinya terjadi pada panjang gelombang yang lebih panjang. Elektron dalam ikatan rangkap dan ganda tiga agak mudah dieksitasi ke orbital yang lebih tinggi (30).

Spektrofotometer serap adalah pengukuran serapan radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik yang diserap zat. Pengukuran serapan dapat dilakukan

pada daerah panjang gelombang UV 190-380 nm atau daerah tampak 380-780 nm (15).

Daya serap atau serapan jenis zat pada batas-batas kadar tertentu adalah tetap, tidak tergantung dari intensitas radiasi, panjang jalan sinar dan kadar larutan. Penyimpangan dari ketentuan tersebut dapat disebabkan oleh adanya variasi alat atau akibat adanya perubahan fisika kimia. Penyimpangan oleh alat dapat disebabkan lebar celah, sinar hambur atau sinar polikromatik. Perubahan fisika kimia dapat berupa terjadinya perubahan kadar yang disebabkan oleh terjadinya asosiasi antara molekul zat yang terlarut atau antara molekul zat dan molekul pelarut, atau terjadinya disosiasi atau ionisasi (15).

Instrumentasi :

a. Sumber Cahaya (31).

Sumber cahaya harus memancarkan sinar dengan kekuatan yang cukup untuk penentuan dan pengukuran. Kedua sumber cahaya itu harus memancarkan radiasi kontinu, artinya spektrumnya harus mengandung semua panjang gelombang dari daerah spektrum yang akan digunakan. Akhirnya sumber itu harus stabil. Kekuatan sinar radiasi harus konstan selama waktu yang diperlukan untuk mengukur  $p$  dan  $p_0$  untuk spektrofotometer single beam. Hanya pada kondisi ini pengukuran absorbans adalah reproduisibel.

Sumber radiasi Ultraviolet : Lampu hidrogen atau deuterium.



## b. Monokromator

Ini merupakan peralatan optika untuk mengisolasi dari sumber kontinu suatu berkas radiasi dengan kemurnian spektral yang tinggi dari panjang gelombang apapun yang dikehendaki (29).

Berguna untuk memisahkan radiasi ke dalam komponen-komponen panjang gelombang dan dapat memisahkan bagian spektrum yang diinginkan dari yang lainnya. Pada umumnya suatu monokromator terdiri dari suatu sistem celah dan lensa dan suatu elemen yang merupakan suatu prisma atau kisi difraksi (31).

Unsur –unsur terpenting sebuah monokromator adalah sistem celah dan unsur dispersif (29).

Cahaya masuk melalui celah masuk, dikolimasi oleh suatu lensa dan jatuh pada permukaan prisma dengan sudut tertentu. Prisma tersebut menguraikan cahaya itu menjadi pita-pita sempit panjang gelombang, yang kemudian kemudian keluar dari prisma dengan sudut yang berbeda. Pita panjang gelombang yang diinginkan itu kemudian difokuskan oleh suatu lensa ke celah keluar, dengan jalan memutar prisma (31).

Dengan monokromator prisma, suatu lebar celah tertentu tidak menghasilkan derajat monokromatisitas yang sama pada seluruh spektrum. Ketergantungan dispersi gelombang pada spektrum tidak tersebar secara uniform. Dispersinya lebih besar untuk panjang gelombang yang lebih pendek, dan karenanya celah lebih lebar disini

dapat mencapai derajat kemurnian spektral yang sama seperti yang akan dicapai dengan celah yang lebih sempit pada panjang gelombang yang lebih panjang (29).

c. Tempat cuplikan kuvet

Harus dibuat dari bahan yang meneruskan dan tidak mengabsorpsi radiasi pada daerah panjang gelombang yang digunakan. Kwarts akan silika yang dilebur dipakai pada daerah  $<350$  nm. Gelas silika untuk daerah antara 350-2000 nm (31).

d. Detektor

Suatu detektor harus dapat memberikan respon pada energi radiasi dalam daerah panjang gelombang yang luas. Di samping itu harus pula peka terhadap kekuatan radiasi lemah, mempunyai respon yang cepat, memproduksi signal listrik yang dapat dibesarkan dan tidak (sekecil mungkin) memberikan bising ("noise") (Ewing)

Detektor itu mempunyai tiga komponen fotoelektrik dasar sebagai berikut :

- 1) Sel fotovoltaiik : energi radiasi menyebabkan terjadinya arus pada lapisan antara semikonduktor dan logam
- 2) Fototube: radiasi menyebabkan fotoemisi elektron dari permukaan zat padat.
- 3) Sel foto konduktif : absorpsi radiasi oleh semi konduktor di dalamnya menyebabkan suatu perubahan tahanan listrik (31).

## BAB III

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah bejana maserasi, buret (*Pirex*), eksikator, labu Erlenmeyer (*Pirex*), labu alas bulat, labu ukur 5 ml, 10,0 ml, 25 ml, 50,0 ml, 100,0 ml, lampu UV 254 nm, lampu UV 366 nm, mikropipet (*Memmert*), neraca analitik, (*Sartorius*), pipet volume 1 ml, 2 ml, seperangkat alat refluxtasi, seperangkat alat rotavapor (*Buchii*), spektrofotometer UV-Vis (*Hewlett Packard*), timbangan Kasar (*O' Hauss*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, aluminium foil, Asam tanat, Asam sulfat (*Emerck*), Asam oksalat (*Emerck*), besi (III) amonium sulfat (*Emerck*), indigo karmin (*Emerck*), daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.), kalium permanganat, metanol, kapas, kertas saring, lempeng KLT G-60 PF<sub>254</sub> (*Emerck*).

#### III.2 Metode Kerja

##### III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

###### III.2.1.1 Pengambilan Sampel

Sampel diperoleh dari 3 (tiga) lokasi yang berbeda di Provinsi Sulawesi Selatan, yaitu berasal dari Pangkep, Gowa dan Makassar.

###### III.2.1.2 Penyiapan sampel

Sampel daun *A. occidentale* diambil langsung dari 3 (tiga) lokasi yang berbeda yaitu Pangkep, Gowa dan Makassar pada pukul 09.00-

12.00. Daun dipetik secara langsung dengan tangan, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir, dan dikering anginkan di tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung.

### **III.2.2 Ekstraksi Sampel**

Sampel yang telah dikeringkan ditimbang masing-masing tiga kali sebanyak 50 g kemudian dimasukkan dalam bejana maserasi, cairan pengestraksi berupa metanol-air ( 1 : 1 ) dimasukkan ke dalam bejana hingga 1-2 ml diatas sampel, lalu ditutup dengan aluminium foil, bejana maserasi disimpan di tempat yang gelap yang terhindar dari sinar matahari langsung selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Campuran kemudian disaring dan ampasnya ditambah lagi pelarut. Proses penyarian dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor hingga agak mengental. Ekstrak kental kemudian dikeringkan dengan cara penguapan pada kompor listrik di depan kipas angin. Ekstrak kental kemudian dimasukkan ke dalam eksikator dan ditimbang bobot masing-masing ekstrak. Dihitung rendamen yang diperoleh, yaitu bobot ekstrak yang diperoleh terhadap bobot sampel yang ditimbang (25).

### **III.2.3 Analisis Kualitatif**

Pemeriksaan tanin dalam jaringan tumbuhan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan cairan pengembang Etil asetat : metanol : asam asetat (200 : 20 : 3). Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak

metanol-air dengan pembanding asam tanat. Tanin tampak berupa bercak biru kehitaman yang diperkuat dengan  $\text{FeCl}_3$ .

### III.2.4 Analisis Kuantitatif

#### III.2.4.1 Pembuatan Larutan Kalium Permanganat 0,1 N

Dilarutkan kira-kira 3,3 gram kalium permanganat dalam labu dengan satu liter air, dan dipanaskan larutan selama 15 menit, ditutup labu itu dan dibiarkan selama 2 hari, kemudian disaring melalui asbes (29)

#### III.2.4.2 Pembakuan larutan Kalium permanganat

Larutan kalium permanganat 0,1 N dibakukan dengan larutan asam oksalat (29):

Ditimbang seksama 1,6 gram asam oksalat ( $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dan dilarutkan dalam labu takar 250 ml dengan air dan dikocok baik-baik. Diipet 25 ml larutan ini, ditambahkan asam sulfat 2 N dan dititrasi dengan kalium permanganat sampai timbul warna merah muda yang stabil.

#### III.2.5.2 Pembuatan asam indigo sulfonat LP

Dilarutkan 1 g indigo karmin P dalam 25 ml asam sulfat P, ditambahkan 25 ml asam sulfat P lagi dan diencerkan dengan air secukupnya hingga 1000 ml (pengenceran dilakukan dengan menuangkan larutan ke dalam sebagian besar air, kemudian diencerkan dengan air secukupnya hingga 1.000 ml) (32).

#### III.2.5.3 Penentuan Kadar Tanin Secara Permanganometri

Prosedur penentuan kadar tanin total secara permanganometri mengikuti Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat (32) :

Lebih kurang 0,4 g ekstrak yang ditimbang seksama dipanaskan dengan 10 ml air mendidih di atas tangas air selama 30 menit sambil diaduk. Didiamkan selama beberapa menit dienap tuangkan melalui segumpal kapas ke dalam labu tentukur 50 ml, disari sisa dengan air mendidih, disaring larutan ke dalam labu tentukur yang sama. Diulangi penyarian beberapa kali hingga larutan bila direaksikan dengan besi (III) amonium sulfat tidak menunjukkan adanya tanin. Didinginkan cairan dan ditambahkan air secukupnya hingga 50 ml. Dipipet 5 ml larutan ke dalam labu 250 ml dicukupkan volumenya dengan air dan ditambahkan 5 ml asam indigo sulfonat LP, dititrasikan dengan kalium permanganat 0,1 N hingga warna larutan berwarna kuning emas. Dilakukan percobaan blanko.

### **III.3 Prosedur Uji Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH**

#### **III.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM**

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara ditimbang DPPH (2,2 difenil-1-pikril hidrazil) sebanyak 0,0157 g dilarutkan dengan 100 ml etanol absolut dalam labu tentukur (33).

#### **III.3.2 Pengukuran Daya Antiradikal Bebas Ekstrak *A. occidentale***

Larutan contoh dibuat dengan konsentrasi 0,05 %, 0,025 %, 0,0125 % dan 0,00625 % dengan cara ditimbang ekstrak *A. occidentale* sesuai konsentrasi tersebut dan dilarutkan dengan etanol absolut sambil diaduk dan dihomogenkan dengan bantuan vorteks, volume akhir dicukupkan

hingga 5,0 ml. Sebanyak 100  $\mu$ L larutan contoh dari berbagai konsentrasi masing-masing ditambah 1,0 ml DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya sampai 5,0 ml dengan etanol absolut. Campuran selanjutnya dihomogenkan dan dibiarkan pada suhu kamar. Serapannya diukur pada panjang gelombang 518 nm pada menit ke-5, 15, 30, 45, 60. Dilakukan pula pengukuran serapan DPPH (blanko).

Besarnya daya antiradikal bebas dihitung dengan rumus :

$$\text{Daya antiradikal bebas} = \frac{(A.\text{blanko} - A.\text{sampel})}{A.\text{blanko}} \times 100\%$$

Nilai  $IC_{50}$  (Inhibit concentration) ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase pengikatan radikal bebas.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV. 1. Hasil

Hasil analisis kandungan tanin dari contoh daun *A. occidentale* secara Permanganometri dan pengukuran daya antiradikal bebas secara spektrofotometri UV-Vis adalah sebagai berikut :

1. Nilai rendemen yang diperoleh dari ekstrak metanol 50% daun muda *A. occidentale* asal Makassar, Pangkep dan Gowa masing-masing 13,18%; 13,64%; 13,69% (Hasil dapat dilihat pada tabel 1).
2. Hasil analisis kualitatif secara kromatografi lapis tipis menggunakan cairan pengelusi etil asetat - metanol - asam asetat (200:20:3) memperlihatkan masing-masing satu noda yang berwarna biru tua untuk pembanding asam tanat dan dua noda dengan warna yang sama untuk contoh. Nilai Rf yang (Hasil dapat dilihat pada gambar 4).
3. Hasil analisis kuantitatif dengan metode permanganometri diperoleh kadar tanin total untuk sampel yang berasal dari Makassar, Pangkep dan Gowa masing-masing 76,67 mg/g ekstrak setara dengan 10,11 mg/g simplisia, 67,33 mg/g ekstrak setara dengan 9,2 mg/g simplisia, 69 mg/g ekstrak setara dengan 9,43 mg/g simplisia (Hasil dapat dilihat pada tabel 3).
4. Daya antiradikal bebas ekstrak daun muda *A.occidentale* dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 467,7  $\mu$ g/ml (menit ke-5); 322,1  $\mu$ g/ml (menit ke-15);



238,7 µg/ml (menit ke-30); 246,6 µg/ml (menit ke-45) dan 199,4 µg/ml (menit ke-60). (Hasil dapat dilihat pada tabel 6).

## IV.2 Pembahasan

Serbuk daun muda *A. occidentale* diekstraksi dengan cara maserasi. Pemilihan metode maserasi pada penelitian ini karena sifat dari daun yang lunak dan tidak mudah mengembang dalam cairan pengestraksi. Cairan pengestraksi metanol : air (1:1) atau metanol 50% digunakan untuk mengekstraksi tanin dalam daun *A.occidentale* (16). Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dihitung masing-masing nilai rendemennya.

Analisis kualitatif ekstrak *A.occidentale* dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak daun muda *A. occidentale* mengandung senyawa tanin. Untuk analisis kualitatif ini menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Eluen yang digunakan adalah etil asetat – metanol - asam asetat (200: 20: 3), hasil elusi kemudian disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$  yang akan membentuk kompleks dengan tanin sehingga warna noda dapat tampak pada sinar visibel ( Hasil pada gambar 4). Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa dalam ekstrak *A.occidentale* mengandung senyawa tanin, meskipun nilai  $R_f$  yang diperoleh berbeda dengan pembanding asam tanat tetapi memperlihatkan respon fisika kimia yang ditandai dengan warna noda yang sama dengan tanin dan derivatnya.

Pada penetapan kadar tanin total digunakan metode permanganometri yang didasarkan atas reaksi oksidasi ion-ion

permanganat. Kalium permanganat adalah larutan titran yang merupakan suatu oksidator kuat yang dapat mengoksidasi tanin dalam suasana asam. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan dari tidak berwarna menjadi kuning emas. Warna ini menunjukkan oksidasi asam indigo sulfonat sebagai indikator oleh larutan baku kalium permanganat (34).

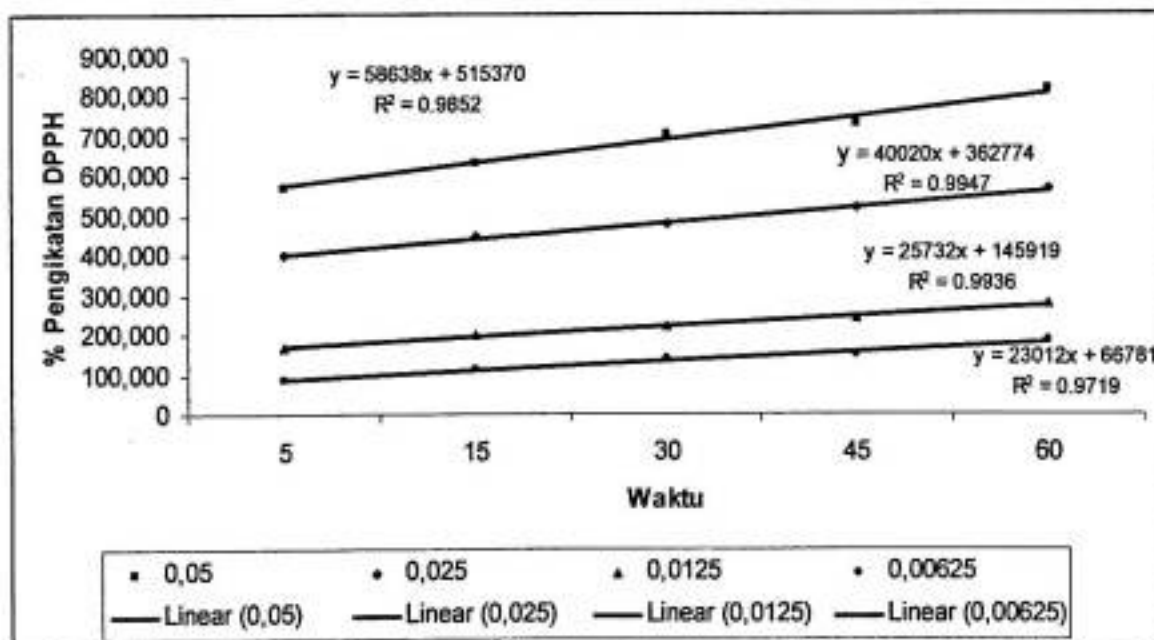
Hasil perhitungan rendemen menunjukkan bahwa ekstrak daun muda *A.occidentale* yang berasal Gowa memiliki nilai rendemen yaitu 13,69% selanjutnya ekstrak daun muda *A.occidentale* asal Pangkep dengan nilai rendemen sebesar 13,64 % dan ekstrak daun muda *A.occidentale* asal Makassar memiliki nilai rendemen 13,18%.

Hasil analisis kuantitatif dengan metode permanganometri diperoleh kadar tanin total untuk sampel yang berasal dari Makassar, Pangkep dan Gowa masing-masing 76,67 mg/g setara dengan 10,11 mg/g simplisia, 67,33 mg/g setara dengan 9,2 mg/g simplisia, 69 mg/g setara dengan 9,43 mg/g simplisia (Hasil dapat dilihat pada tabel 4).

Beberapa tanin terbukti sebagai antiradikal bebas (17), karena ditemukannya senyawa poliphenol. Senyawa poliphenol inilah yang disarankan oleh para ahli sebagai zat antioksidan yang diperoleh secara alami sebagai pengganti zat antioksidan sintetik (20). Uji daya antiradikal bebas dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-hidrazil) dimaksudkan untuk menguatkan aktivitas suatu senyawa uji (ekstrak metanol daun *A. occidentale*) sebagai antiradikal bebas. DPPH merupakan radikal sintetik

yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. DPPH merupakan radikal yang stabil yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 518 nm (33).

Daya antiradikal bebas ekstrak *A. occidentale* ditunjukkan dari nilai  $IC_{50}$  sebesar 467,7  $\mu\text{g/ml}$  untuk menit ke-5; 322,1  $\mu\text{g/ml}$  untuk menit ke-15; 238,7 untuk menit ke-30; 246,6  $\mu\text{g/ml}$  untuk menit ke-45 dan 199,4  $\mu\text{g/ml}$  untuk menit ke-60. Pengukuran serapan pada uji antiradikal bebas dengan metode DPPH dilakukan mulai menit ke-5 hingga menit ke-60 untuk melihat apakah ada hubungan antara konsentrasi dengan kemampuan penangkapan radikal bebas dari waktu ke waktu. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada waktu yang sama konsentrasi larutan uji yang lebih tinggi akan memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas yang lebih tinggi pula dan ada korelasi antara waktu pengukuran dengan aktivitas pengikatan radikal bebas (Hasil dapat dilihat pada gambar berikut ini) :



Analisis statistika dengan rancangan faktorial menunjukkan bahwa ada pengaruh sangat nyata ( $\alpha$  0,01) waktu pengukuran dan konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas pengikatan radikal bebas. Analisis antar waktu dengan uji BNT menunjukkan bahwa ada pengaruh sangat nyata dari waktu ke waktu pada konsentrasi 0,05% b/v kecuali antara menit ke- 45 dan menit ke- 30, untuk konsentrasi 0,025% b/v yang berbeda tidak nyata ditunjukkan antara menit ke- 60 dengan menit ke- 45, antara menit ke- 45 dan ke-30, antara menit ke-15 dan menit ke-5. Untuk konsentrasi 0,0125% b/v pengaruh yang berbeda tidak nyata ditunjukkan antara menit ke-60 dengan menit ke-45, antara menit ke-45 dengan ke-30, antara menit ke-45 dengan menit ke-15, antara menit ke-30 dengan menit ke 15, antara menit ke- 15 dengan menit ke-5 , dan untuk konsentrasi 0,00625 % b/v pengaruh yang berbeda tidak nyata ditunjukkan antara menit ke-60 dengan menit ke-30, antara menit ke-60 dengan menit ke-45, antara menit ke- 45 dengan menit ke- 15, antara menit ke-45 dengan menit ke-30, antara menit ke-30 dengan menit ke-15 dan antara menit ke-15 dengan menit ke-5. Hal ini berarti perbedaan waktu pengujian memiliki pengaruh yang lebih besar pada konsentrasi uji yang lebih tinggi.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Nilai rendemen yang diperoleh dari ekstrak metanol 50% daun muda *A. occidentale* asal Makassar, Pangkep dan Gowa masing-masing 13,18%; 13,64%; 13,69% ,
2. Analisis kualitatif dengan kromatografi lapis tipis memberikan hasil yang positif untuk tanin. Kadar tanin yang paling tinggi ditemukan pada ekstrak metanol daun muda *A.occidentale* yang berasal dari Makassar yaitu 76,67 mg/g ekstrak setara dengan 10,11 mg/g simplisia daun muda *A.occidentale*
3. Daya antiradikal bebas ekstrak daun muda *A.occidentale* asal Makassar ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 467,7  $\mu\text{g/ml}$  (menit ke-5);  $IC_{50}$  sebesar 322,1  $\mu\text{g/ml}$  (menit ke-15);  $IC_{50}$  sebesar 238,7  $\mu\text{g/ml}$  ( menit ke-30);  $IC_{50}$  sebesar 246,6  $\mu\text{g/ml}$  (menit ke-45) dan  $IC_{50}$  sebesar 199,4  $\mu\text{g/ml}$  (menit ke-60).

#### V.2 Saran

Perlu dilakukan penentuan kondisi observasi yang menghasilkan pengikatan radikal bebas yang optimum.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ahmad, S., A. 1980. *Kimia Organik Bahan Alam*. Penerbit Kurnia. Jakarta. 4
2. Hembing. 2000. *Tumbuhan Berhkasiat Obat di Indonesia*. Jilid I., Prestasi Insani Indonesia. Jakarta. 6
3. Tampubolon, S. T. 1995. *Tumbuhan Obat*. Penerbit Bhratara. Jakarta. 49
4. Thomas, A. N. S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
5. Ernita, D. & Rasyidah, R. 2000 *Jambu Monyet*  
[http://www.asiamaya.com/jamu/isi/jambumonyet\\_anarcadiaceae.htm](http://www.asiamaya.com/jamu/isi/jambumonyet_anarcadiaceae.htm), diakses 13 Februari 2005
6. Murthy, S. 1982. Chemical Examination of *Anacardium occidentale* L. ; Isolation and Structure Determination of Bioflavonoid-C-glikosida. *Planta Med.* **45** (3) : 3-7
7. Laurence, D. R. & Bennet, P. N. 1987. *Clinical Pharmacology*. Sixth Edition. Longman Singapore Publisher. 635
8. Kristiana. 1998. Uji Efek Antidiare Ekstrak Metanol Daun Muda *Anacardium occidentale* L. Terhadap Mencit. *Skripsi*, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makassar. 7
9. Heyne, K. **tanpa tahun**. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Terjemahan Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jilid III. 1987. Penerbit Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta
10. Tjitrosopomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
11. Djarijah, N. M. & Mahedalswara, D. 1994. *Anacardium occidentale* L. dan *Pembudidayaannya*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
12. Sumartono. 1983. *Anacardium occidentale* L.. CV. Bumi Restu. Jakarta
13. Rismunandar. 1986. *Memperbaiki Lingkungan Dengan Bercocok Tanam Anacardium occidentale* L. dan *Alpukat*. Penerbit Sinar Baru. Bandung

14. Manitto, P. 1980. *Biosintesis Produk Alami*. Terjemahan oleh Koensoemardiyah. 1992. IKIP Press. Semarang
15. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 1135
16. Harborne, J. B. 1984. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. 1987. Penerbit ITB. Bandung. 102,103
17. Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. 1995. Penerbit ITB. Bandung.96, 71
18. Theodore, T. , Paul J. , K. & Stephen, G. P. 1991. *The Physiological Ecology of Woody Plants*. Academic Press, Inc.
19. Budisusilo, T. 2003. *Tanin Sebagai Antioksidan*. Penerbit Sinar Baru Bandung
20. Tan, H. T. & Rahardja, K. 2002. *Obat-Obat Penting*. Edisi Kelima. PT. Gramedia. Jakarta.602
21. Pokorni, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. 2001. *Antioxidant in Food; Practical Applications*. CRC Press. New York
22. Amarowicz, R., Naczki, M., & Shahidi, F. 2000. *Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls*. JAOCS. 77, 957-961
23. Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.121
24. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1997. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.9
25. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI. 1, 10-20
26. Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. UGM Press. Yogyakarta
27. Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerbit ITB. Bandung
28. Rivai, H. 1995. *Asas Pemeriksaan Kimia*. UI Press. Jakarta

29. Day, R. A & Underwood, A. L. 1980. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Edisi Keempat. Diterjemahkan Oleh R. Soendoro. 1986. Penerbit Erlangga. Jakarta
30. Hendayana, S. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. IKIP Semarang Press. Semarang
31. Ewing, G. W. 1975. *Instrumental Method of Chemical Analysis*. Fourth Edition. MC Graw Hill. Kogakhusa LTD. Tokyo. Jepang
32. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
33. Rohman, Abd & Sugeng, R. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) Secara In Vitro. *Majalah Farmasi Indonesia*. **16 (3)** : 136-140
34. Sosiyawati, Dwi. 2002. Penentuan Konsentrasi Albumen Yang Efektif Dalam Pengendapan Tanin yang Terdapat Dalam Perasan Semu Jambu Mete. *Skripsi*, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makassar. 25



Tabel 1. Harga Probit Sesuai Persentasenya

PROSENTASE	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,87	3,92	3,92	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,29	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,59	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,85	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,10	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,36	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,64	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,99	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,25	6,34	6,41	6,55	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,66	7,75	7,88	8,09

Tabel 2. Nilai Rendemen Antara Bobot Simplisia dan Bobot Ekstrak

Nama Ekstrak	Bobot Simplisia (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata $\pm$ Standar deviasi (%)
Metanol (Daun asal Makassar)	50	7,12	14,24	13,18 $\pm$ 0,93
	50	6,40	12,80	
	50	6,25	12,5	
Metanol (Daun asal Pangkep)	50	7,0	14,0	13,64 $\pm$ 0,54
	50	6,55	13,01	
	50	6,95	13,9	
Metanol (Daun Asal Gowa)	50	6,53	13,06	13,69 $\pm$ 0,59
	50	7,1	14,2	
	50	6,9	13,8	

Tabel 3. Hasil Analisis Kualitatif dari Ekstrak Daun Muda jambu mete (*Anacardium occidentale* L.). Dengan Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan Eluen Etil Asetat : Metanol : Asam asetat (200 : 20 :3)

No.	Rf		FeCl <sub>3</sub>	Ket
	S	P		
1.	0,75	0,21	Noda berwarna biru kehitaman	+
2.	0,85		Noda berwarna biru kehitaman	+

Tabel 4. Hasil Penentuan Kadar Tanin Total Daun Muda jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) Secara Permanganometri

Macam Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Persen Kadar Ekstrak (%)	Persen Kadar Ekstrak (mg/g)	Rata-rata (mg/g)	Persen Kadar simplisia (mg/g)	Rata-rata (mg/g)
Makassar	7,12	7,8	78	76,67	11,10	10,11
	6,40	7,8	78		9,98	
	6,25	7,4	74		9,25	
Pangkep	7,0	7,0	70	67,33	9,8	9,2
	6,55	6,5	65		8,51	
	6,95	6,7	67		9,31	
Limbung	6,53	7,2	72	69	9,40	9,43
	7,1	6,7	67		9,51	
	6,9	6,8	68		9,38	

Tabel 5. Hasil Pengukuran Serapan Ekstrak Daun Muda jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap pengikatan radikal bebas DPPH

Konsentrasi (%)	Waktu (Menit)	Serapan (A)	Rata-rata	Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH (%)	Rata-rata (%)
0,05	5	0,2352 0,2573 0,2500	0.2475	59,2445 55,4150 56,6795	57,1131
	15	0,2020 0,2185 0,2129	0,2111	64,9970 62,1556 63,1086	63,4205
	30	0,1558 0,1815 0,1761	0,1711	73,0029 68,5496 69,4854	70,3518
	45	0,1373 0,1628 0,1636	0,1545	76,2086 71,7998 71,6514	73,2283
	60	0,0628 0,1123 0,1447	0.1066	89,1180 80,5406 74,9263	81,5283
0,025	5	0,3501 0,3689 0,3167	0,3452	45,1222 36,0769 39,3346	40,1837
	15	0,3326 0,3374 0,2862	0,3187	42,3670 41,5352 45,9416	44,7756
	30	0,3196 0,3019 0,2789	0,3000	45,0875 47,6867 51,6721	48,0156
	45	0,3070 0,2825 0,2468	0.2787	46,8030 51,0483 57,9622	51,7068
	60	0,2897 0,2543 0,2053	0,2497	49,8007 55,9348 64,4256	56,7319
	5	0,4677 0,4855 0,4831	0,4787	18,9569 15,8725 16,2883	17,0507
	15	0,4528 0,4666	0,4614	21,5387 19,1475	20,0485

0,0125		0,4648	-	19,4594	
	30	0,4489	0,4483	22,2145	22,3184
		0,4560		20,9843	
		0,4402		23,7220	
45	0,4338	0,4363	23,9646	24,3978	
	0,4507		21,9026		
	0,4245		26,4425		
60	0,4233	0,4170	26,6505	27,7421	
	0,4216		26,9450		
	0,4063		29,5963		
0,00625	5	0,4960	0,5253	14,0350	8,7959
		0,5363		7,0698	
		0,5437		5,7876	
	15	0,4688	0,5119	18,7662	11,2977
		0,5284		8,4387	
		0,5386		6,6713	
	30	0,4687	0,4959	18,7836	14,0703
		0,5112		11,4192	
		0,5080		11,9737	
	45	0,4631	0,4913	19,7539	14,8674
0,5023		12,9614			
0,5085		11,8870			
60	0,4494	0,4692	22,1279	18,6969	
	0,4912		14,8848		
	0,4967		13,9317		

Serapan blanko = 0,5771

Tabel 6. Hasil Perhitungan IC<sub>50</sub>

Waktu (menit)	Probit pada berbagai konsentrasi				Persamaan Garis Linear
	0,05%	0,025%	0,0125%	0,00625%	
5	5,182	4,754	4,051	3,646	Y = 1,294 + 1,384 x R = 0,9884 IC <sub>50</sub> = 467,7 µg/ml
15	5,343	4,865	4,171	3,782	Y = 0,534 + 1,781 x R = 0,9894 IC <sub>50</sub> = 322,1 µg/ml
30	5,530	4,950	4,240	3,922	Y = 0,009 + 2,061x R = 0,9803 IC <sub>50</sub> = 238,7 µg/ml
45	5,617	5,044	4,306	3,946	Y = 0,415 + 1,917 x R = 0,9845 IC <sub>50</sub> = 246,6 µg/ml
60	5,901	5,172	4,412	4,108	Y = 0,2941 + 2,046 x R = 0,9706 IC <sub>50</sub> = 199,4 µg/ml



Gambar 4. Profil KLT daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diamati pada sinar tampak (setelah disemprot  $\text{FeCl}_3$ )

Keterangan :

P = Pembanding

S = Sampel

Eluen = Etil asetat : metanol : asam asetat (200:20:3)





Gambar 5. Profil KLT daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diamati pada lampu UV 254 nm

Keterangan :

P = Perbandingan

S = Sampel

Eluen = Etil asetat : metanol : Asam asetat (200 : 20 : 3)



P S

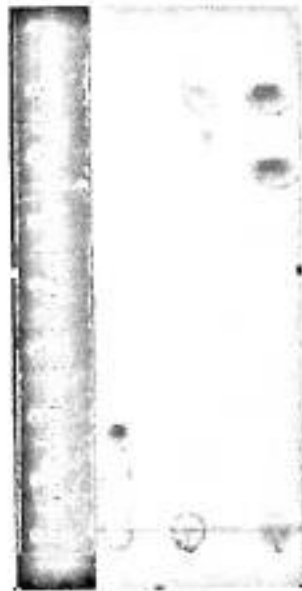
Gambar 6. Profil KLT daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diamati pada lampu UV 366 nm

Keterangan :

P = Pembanding

S = Sampel

Eluen = Etil asetat : metanol : asam asetat (200 : 20 : 3)



P STL SL

Gambar 7. Profil KLT daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diamati pada sinar tampak setelah disemprot  $\text{FeCl}_3$

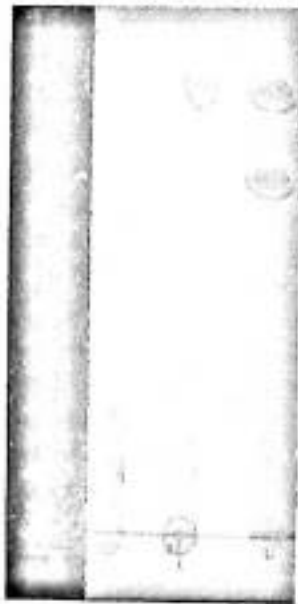
Keterangan :

P = Pembanding

STL = Sampel tidak larut etil asetat

SL = Sampel larut etil asetat

Eluen = Etil asetat : metanol : asam asetat (200 : 20 : 3)



P STL SL

Gambar 8. Profil KLT daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diamati pada UV 254 nm

Keterangan :

P = Perbandingan

STL = Sampel tidak larut etil asetat

SL = Sampel larut etil asetat

Eluen = Etil Asetat : metanol : asam asetat (200 : 20 : 3)



P STL SL

Gambar 9. Profil KLT daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diamati pada lampu UV 366 nm

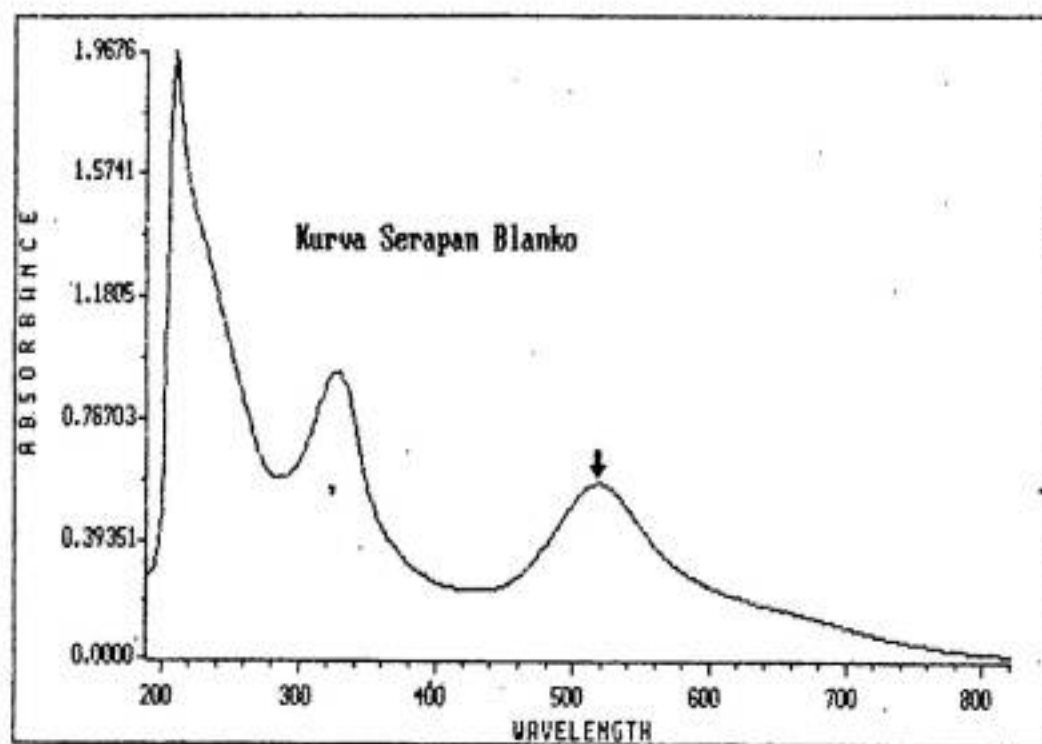
Keterangan :

P = Pembanding

STL = Sampel tidak larut etil asetat

SL = Sampel larut etil asetat

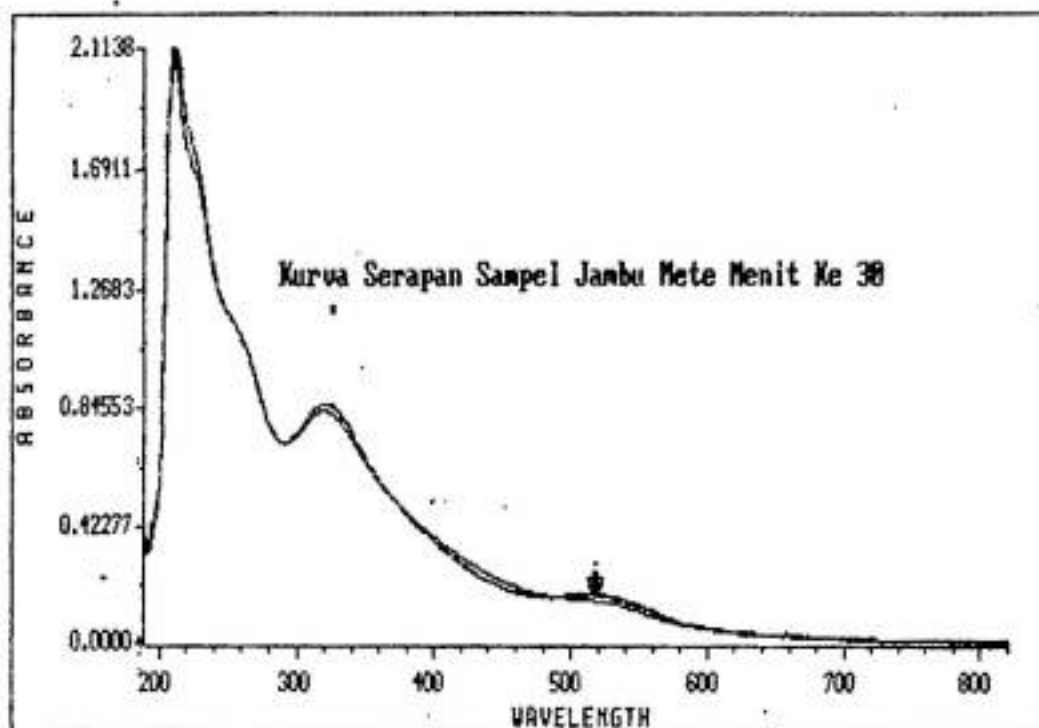
Eluen = Etil Asetat : metanol : asam asetat (200 : 20 : 3)



Annotated Wavelengths:

1 : Wavelength = 518      Result = 0.577118

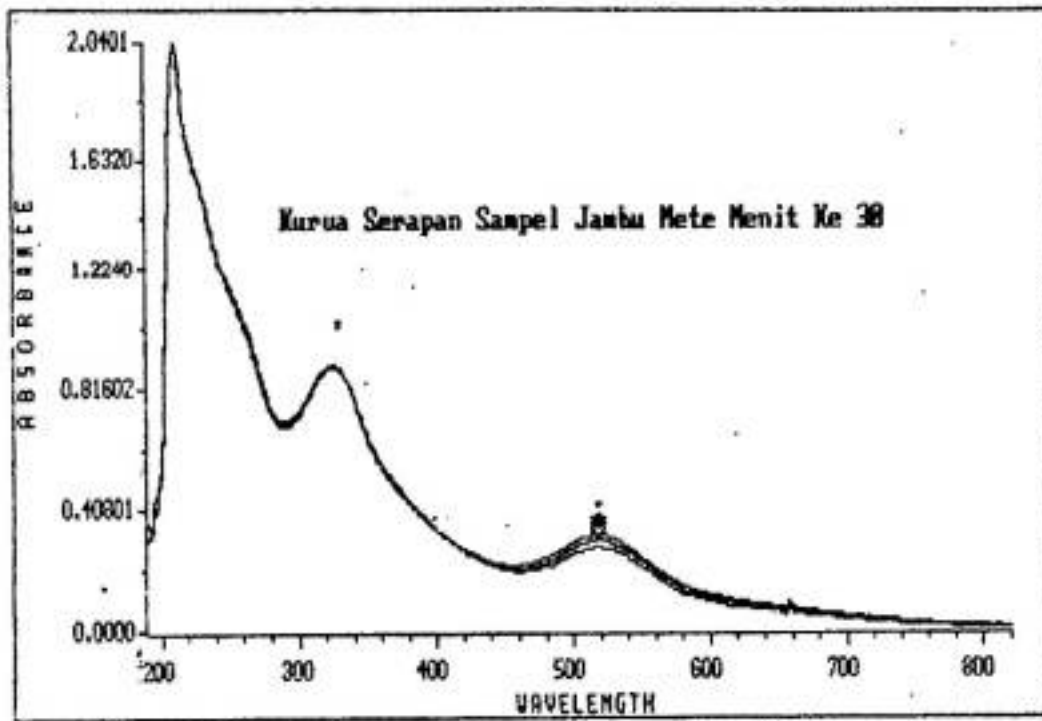
Gambar 10. Kurva serapan larutan DPPH dengan pelarut etanol absolut



Annotated Wavelengths:

1 : Wavelength = 518	Result =	0.176056
2 : Wavelength = 518	Result =	0.155762
3 : Wavelength = 518	Result =	0.181473

Gambar 11. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,05% menit ke -30

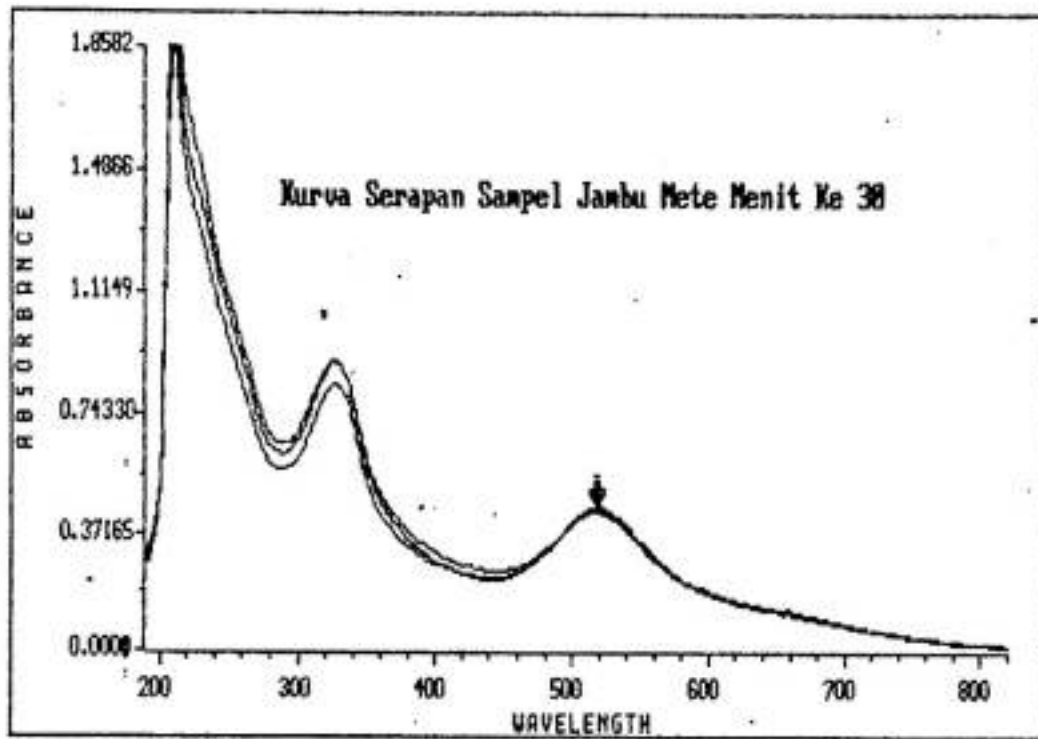


Annotated Wavelengths:

1 : Wavelength = 518	Result =	0.319595
2 : Wavelength = 518	Result =	0.301695
3 : Wavelength = 518	Result =	0.278519

Gambar 12. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,025% menit ke -30

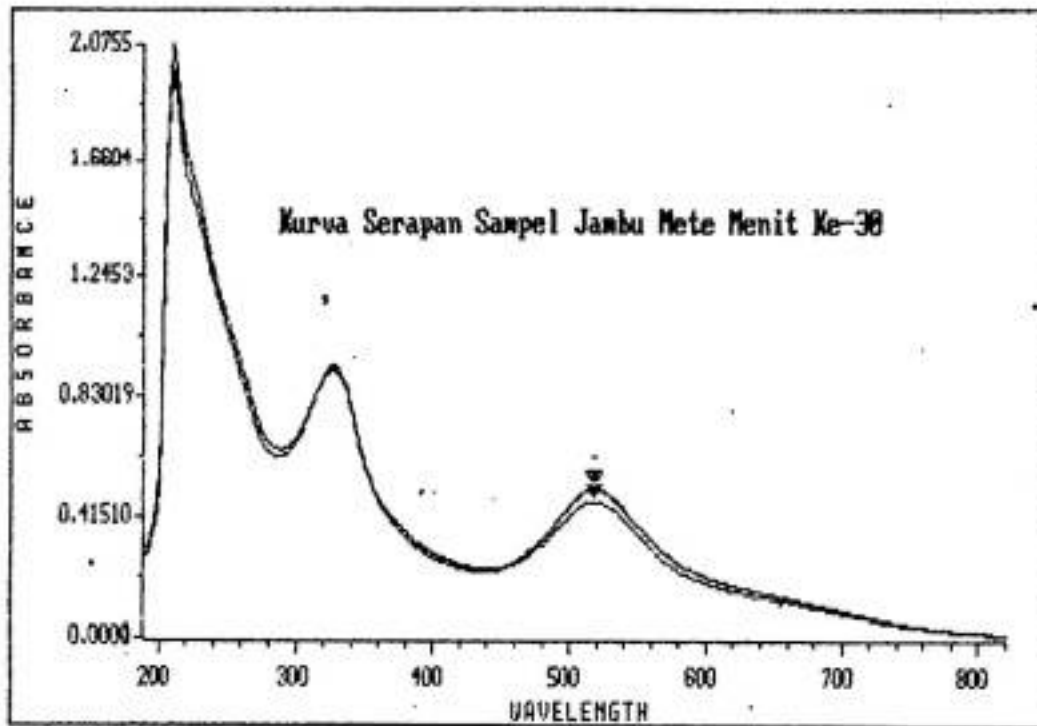




Annotated Wavelengths:

1 : Wavelength = 518	Result = 0.448929
2 : Wavelength = 518	Result = 0.455978
3 : Wavelength = 518	Result = 0.440216

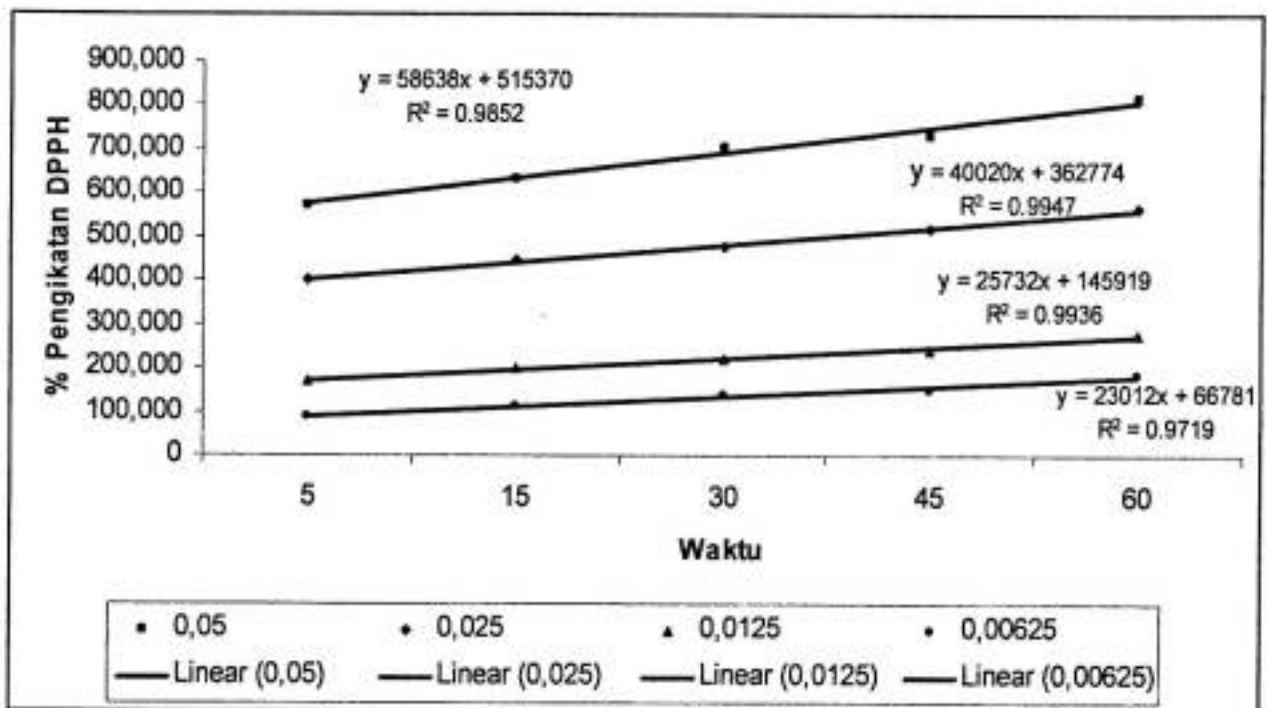
Gambar 13. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,0125% menit ke -30



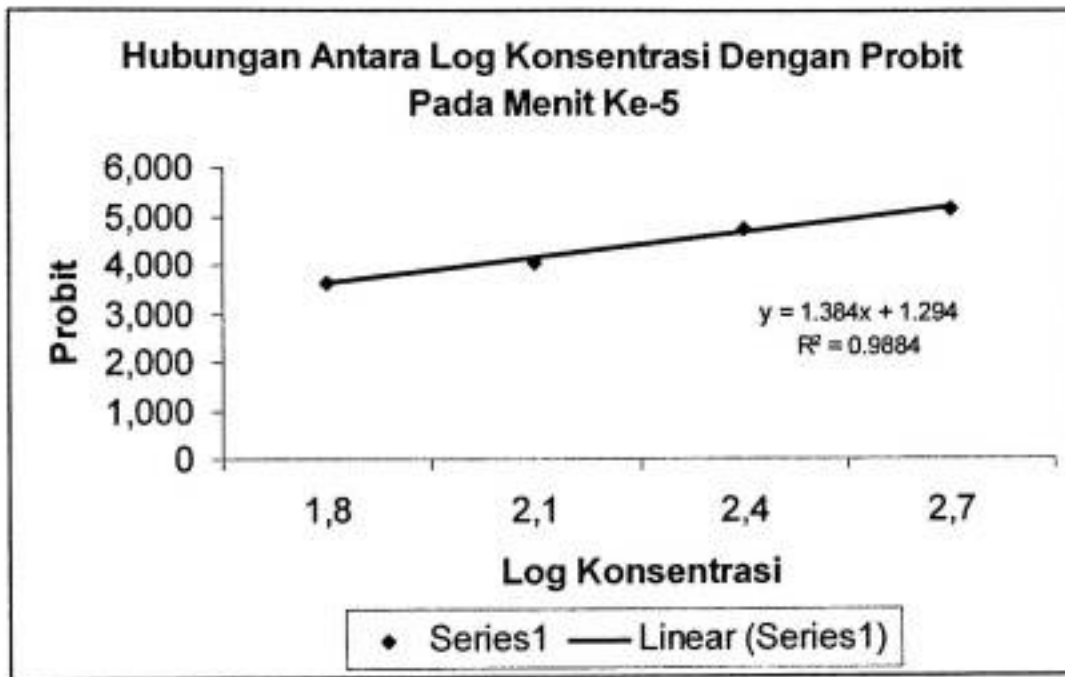
Annotated Wavelengths:

1 : Wavelength = 518	Result =	0.468735
2 : Wavelength = 518	Result =	0.511185
3 : Wavelength = 518	Result =	0.508026

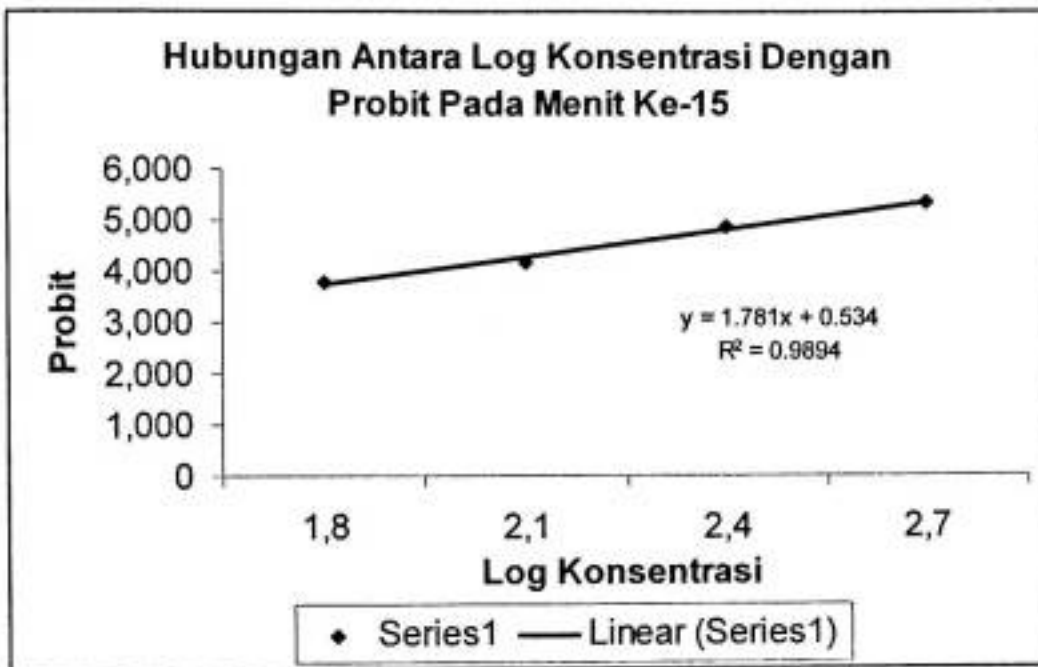
Gambar 14. Kurva serapan pengikatan DPPH oleh larutan contoh pada konsentrasi 0,00625% menit ke -30



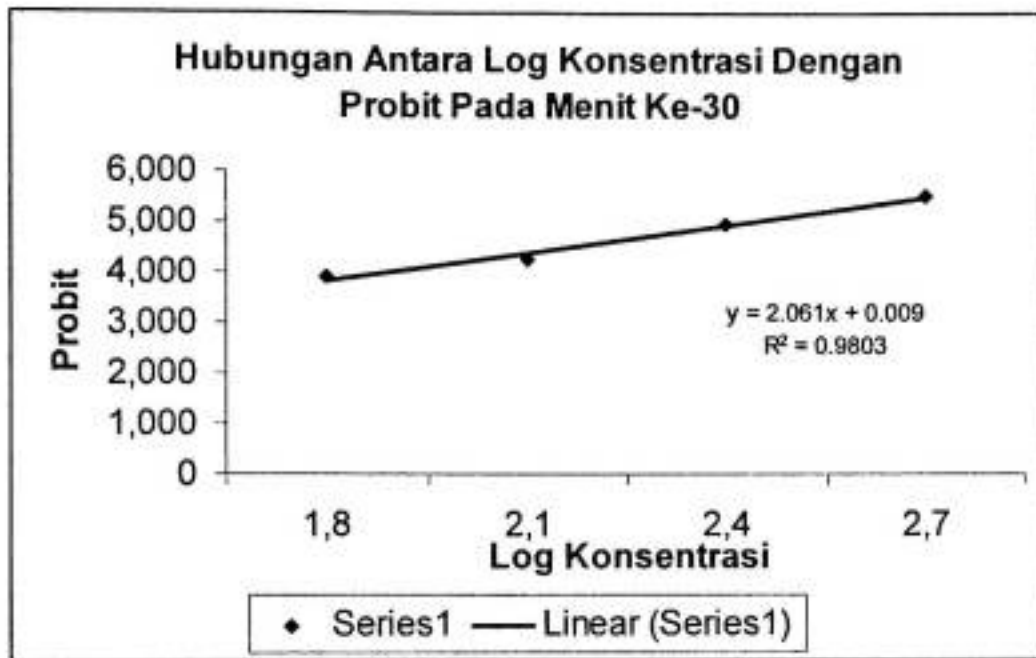
Gambar 15. Grafik hubungan antara waktu pengukuran dan aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH



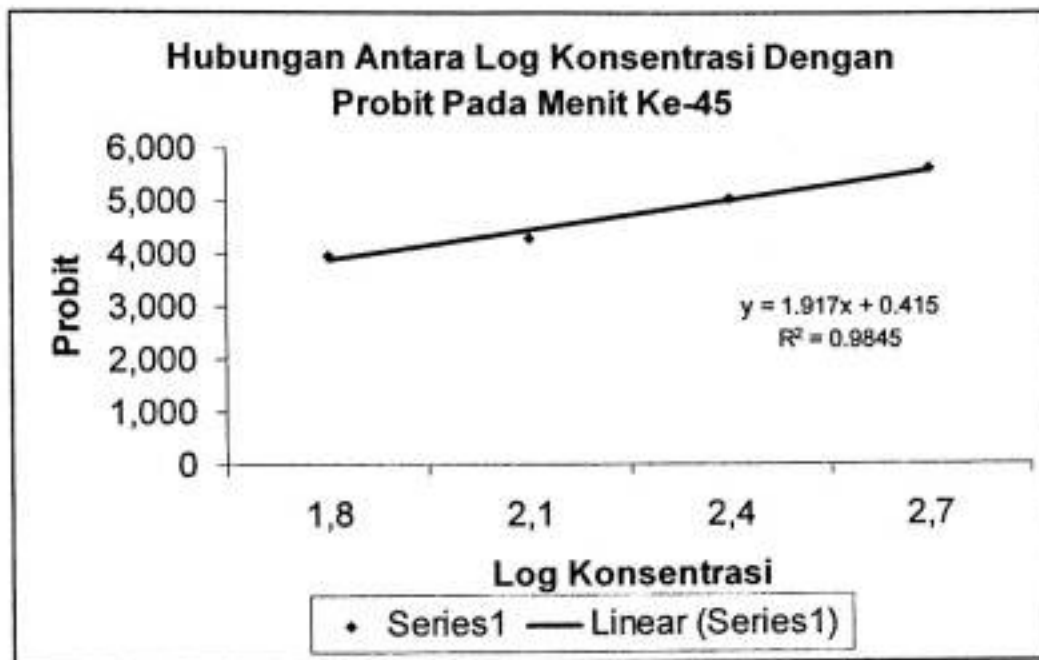
Gambar 16. Grafik hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-5



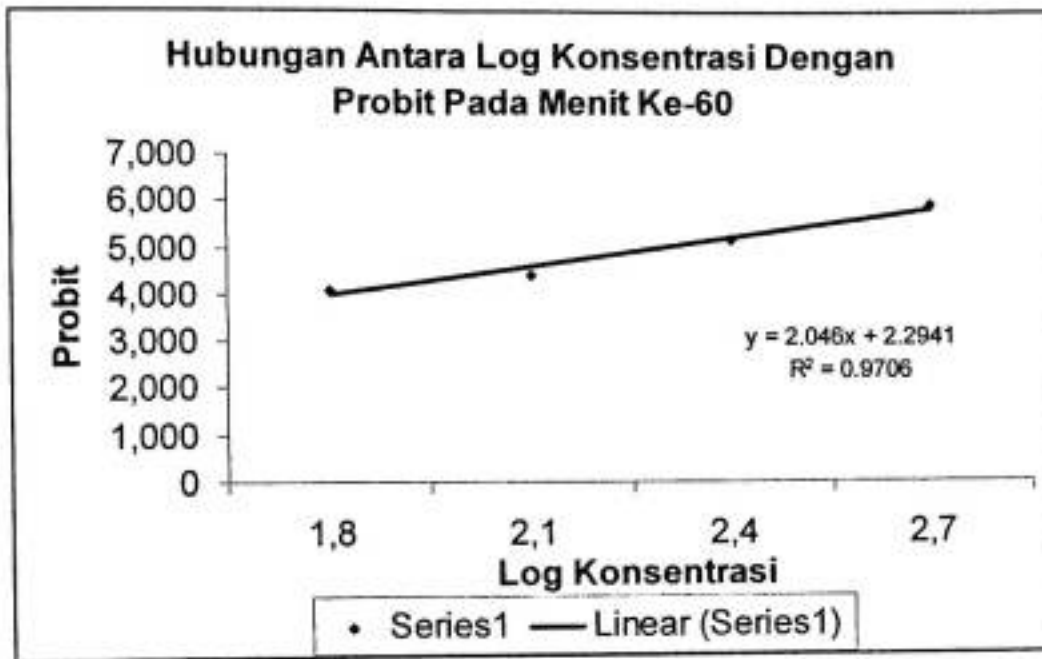
Gambar 17. Kurva baku hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-15



Gambar 18. Kurva baku hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-30

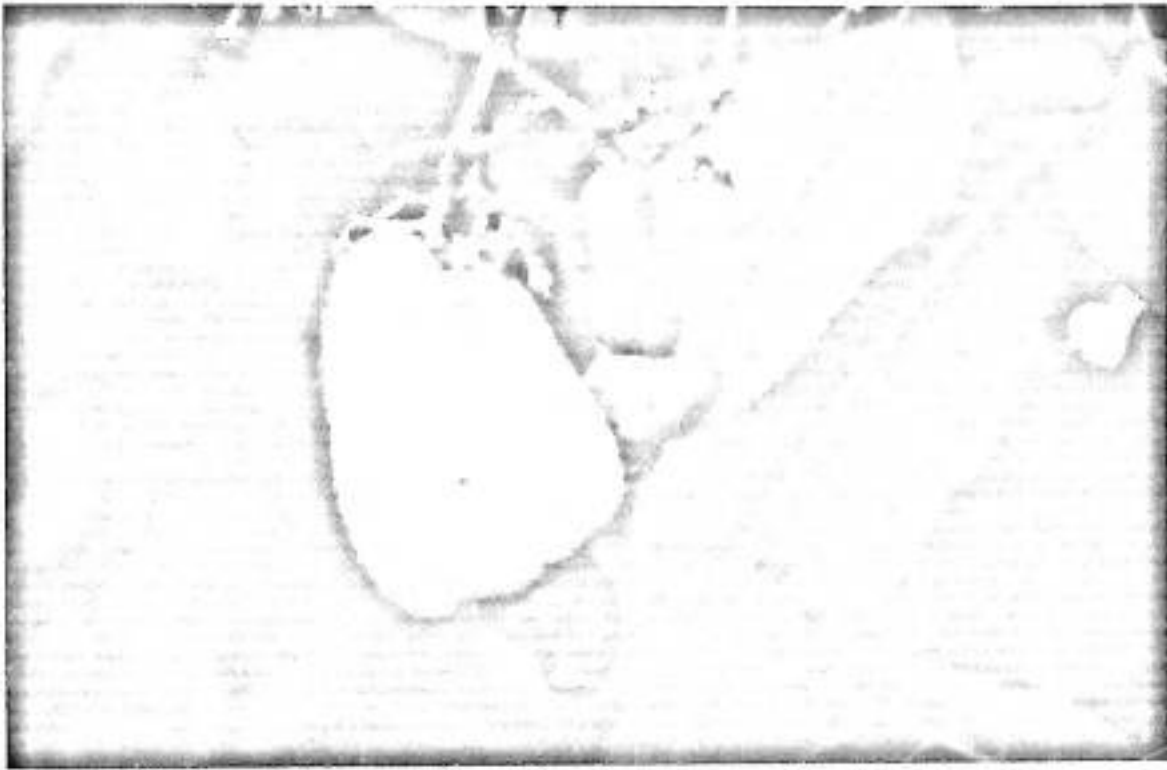


Gambar 19. Kurva baku hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-45



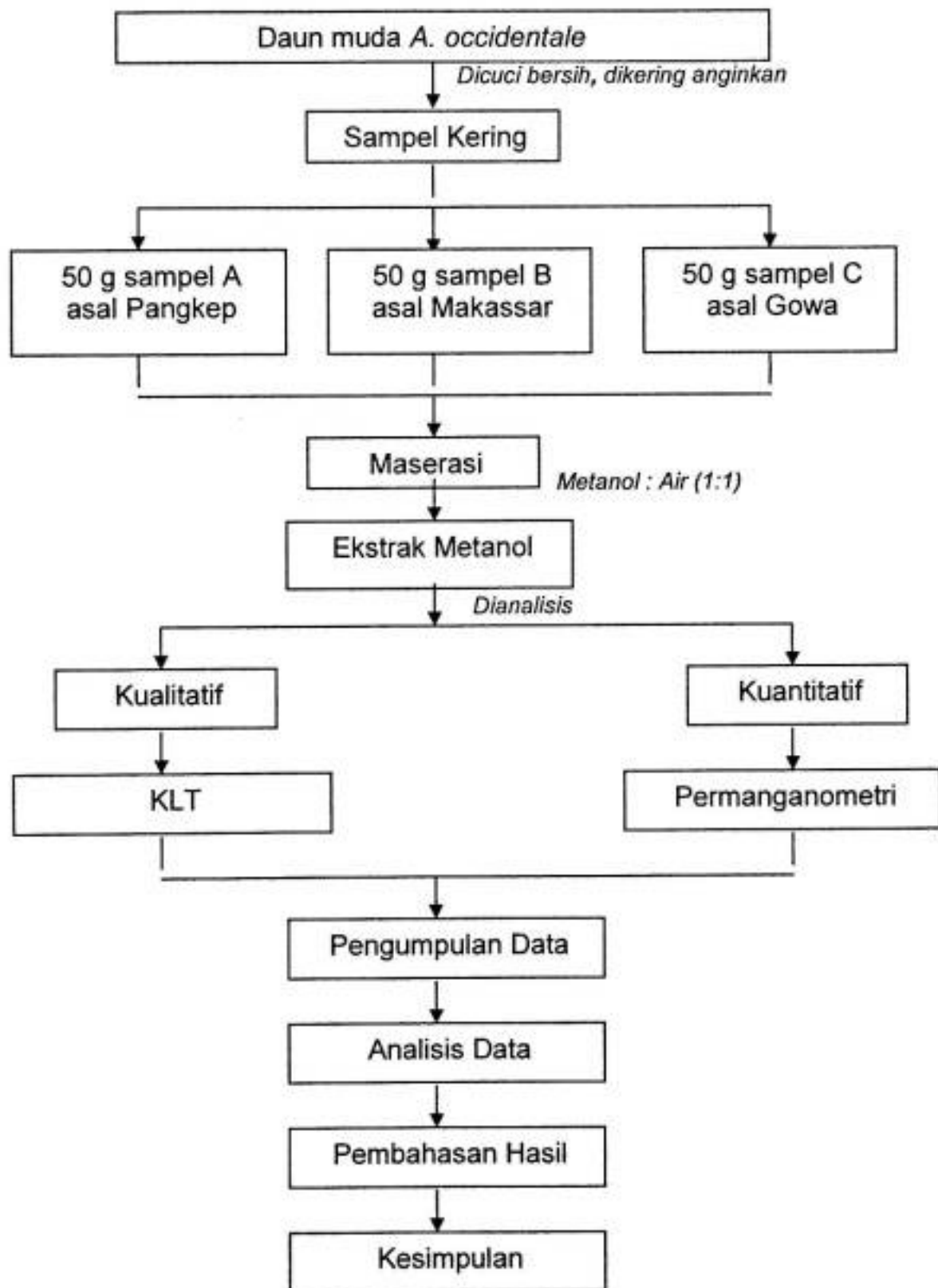
Gambar 20. Kurva baku hubungan antara probit dengan konsentrasi pada menit ke-60



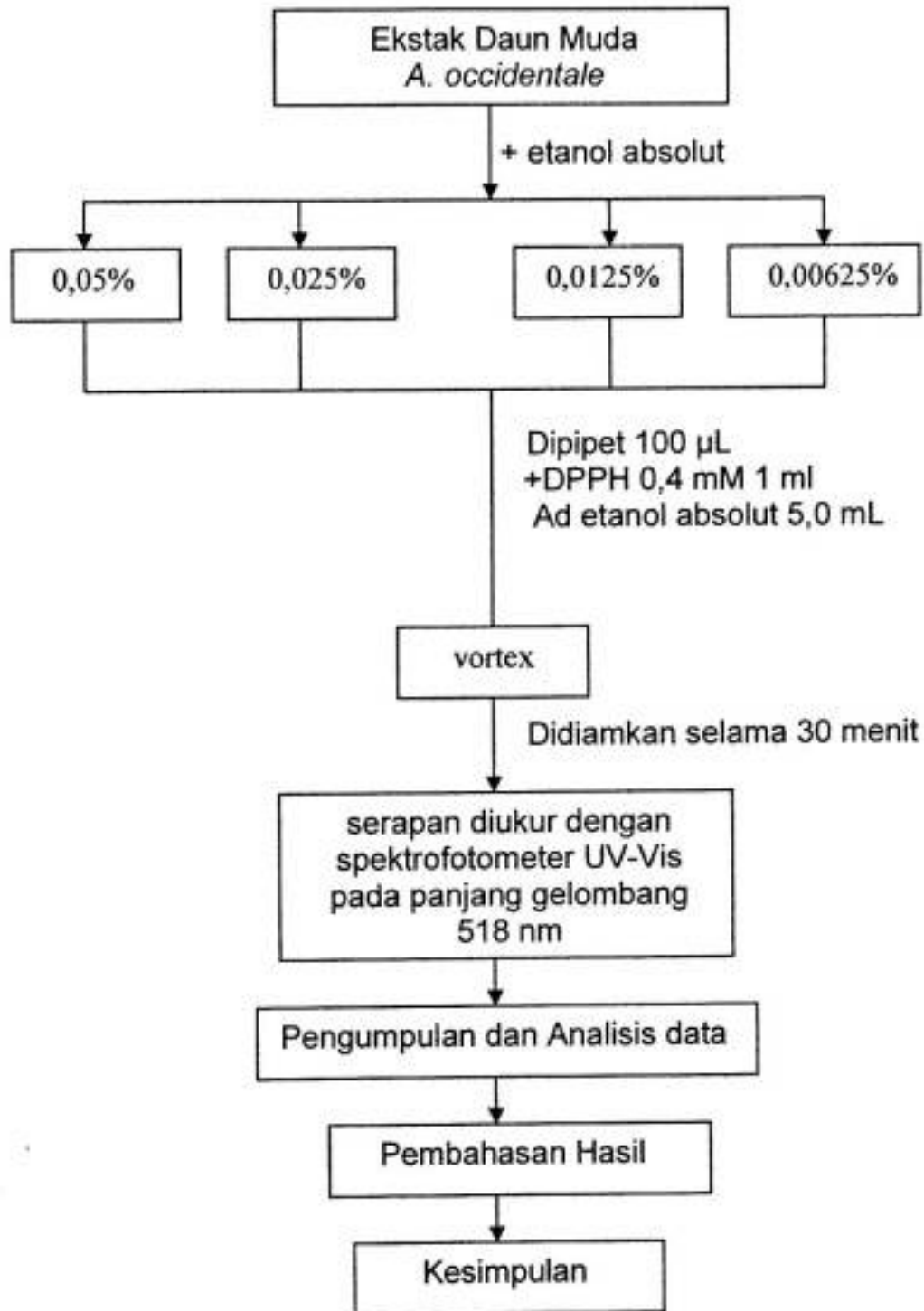


Gambar 21. Foto bagian tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

Lampiran 1. Skema Kerja Analisis Kandungan Tanin Total Daun Muda *A. occidentale*



Lampiran 2. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal bebas



Lampiran 3. Contoh Perhitungan Rendemen dari Ekstrak Daun muda  
*A. occidentale*

Jenis Ekstrak = Metanol Asal Makassar

Bobot simplisia = 50 gram

Bobot Ekstrak = 7,12 gram

Rendemen (%) =  $\frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$

Rendemen (%) =  $\frac{7,12}{50} \times 100\%$

Rendemen (%) = 14,2%

Lampiran 4. Contoh Perhitungan Nilai Rf Hasil Kromatografi Lapis Tipis  
Ekstrak Daun Muda *A. occidentale*

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$= \frac{7,5}{10}$$

$$= 0,75$$

Lampiran 5. Perhitungan Persamaan Regresi Linear

X	Y	XY	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>
2,1	5,182	13,991	7,29	26,853
2,4	4,754	11,409	5,76	22,600
2,1	4,051	8,507	4,41	16,410
1,8	3,646	6,563	3,24	13,293
ΣX=9 (ΣX) <sup>2</sup> = 81	ΣY= 17,633 (ΣY)=310,922	ΣXY= 40,47	ΣX <sup>2</sup> =20,7	ΣY <sup>2</sup> =79,150

Persamaan regresi  $Y = a + bx$

Y = serapan

X = konsentrasi ppm

n = jumlah data

Berdasarkan rumus :

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \\
 &= \frac{4 \times 40,47 - \{(9) (17,633)\}}{4 \times 20,7 - 81} \\
 &= \frac{161,188 - 158,697}{82,8 - 81} \\
 &= \frac{2,491}{1,8} \\
 &= 1,3839
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} a &= \frac{\Sigma y - b \Sigma x}{n} \\ &= \frac{17,633 - 1,3839 (9)}{4} \\ &= \frac{17,633 - 12,4551}{4} \\ &= \frac{5,1779}{4} \\ &= 1,2944 \end{aligned}$$

Jadi,  $y = 1,2944 + 1,3839 x$

Lampiran 6. Contoh Perhitungan Kadar Tanin Total dalam Ekstrak  
Metanol 50% Pada Berbagai Konsentrasi

1. Jenis ekstrak : metanol 50% daun muda *A. occidentale* asal Makassar<sup>1</sup>

- Volume titrasi sampel ( $V_s$ ) = 8 ml
- Volume titrasi blanko ( $V_b$ ) = 1,2 ml
- Bobot ekivalen = 1 ml  $\text{KMnO}_4 \sim 4,157$  mg tannin
- Faktor pengenceran =  $\frac{50}{5}$
- Bobot sampel = 400 mg
- Normalitas Larutan Blanko = 0,1107 N
- Kadar Tanin Total dalam Ekstrak methanol asal Makassar 1

$$K = \frac{(V_b - V_s) \times N \times f \times BE}{\text{Bobot Sampel}} \times 100\%$$
$$= \frac{(8 - 1,2) \times 0,1107 \times 4,157 \times 10}{400} \times 100\%$$
$$= 7,8\% \text{ b/b}$$
$$= 78 \text{ mg/g ekstrak}$$

Jadi kadar tannin total dalam simplisia daun muda *A. occidentale* :

$$= \frac{7,12 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 78 \text{ mg/g}$$
$$= 11,10 \text{ mg/g simplisia}$$



2. Jenis ekstrak : metanol 50% daun muda *A.occidentale* asal Makassar2

- Volume titrasi sampel ( $V_s$ ) = 8 ml

- Volume titrasi blanko ( $V_b$ ) = 1,2 ml

- Bobot ekivalen = 1 ml  $KMnO_4 \sim 4,157$  mg tannin

- Faktor pengenceran =  $\frac{50}{5}$

- Bobot sampel = 400 mg

- Normalitas Larutan Blanko = 0,1107 N

- Kadar Tanin Total dalam Ekstrak metanol asal Makassar 2

$$\begin{aligned}K &= \frac{(V_b - V_s) \times N \times f \times BE}{\text{BobotSampel}} \times 100\% \\&= \frac{(8 - 1,2) \times 0,1107 \times 4,157 \times 10}{400} \times 100\% \\&= 7,8\% \\&= 78 \text{ mg/g ekstrak}\end{aligned}$$

Jadi kadar tanin total dalam simplisia daun muda *A.occidentale* :

$$\begin{aligned}&= \frac{6,4g}{50g} \times 78 \text{ mg/g ekstrak} \\&= 9,98 \text{ mg/g simplisia}\end{aligned}$$

3. Jenis ekstrak : metanol 50% daun muda *A. occidentale* asal  
Makassar 3

- Volume titrasi sampel ( $V_s$ ) = 7,6 ml
- Volume titrasi blanko ( $V_b$ ) = 1,2 ml
- Bobot ekivalen = 1 ml  $\text{KMnO}_4 \sim 4,157$  mg tannin
- Faktor pengenceran =  $\frac{50}{5}$
- Bobot sampel = 400 mg
- Normalitas Larutan Blanko = 0,1107 N
- Kadar Tanin Total dalam Ekstrak metanol asal Makassar 3

$$\begin{aligned}K &= \frac{(V_b - V_s) \times N \times f \times BE}{\text{Bobot Sampel}} \times 100\% \\&= \frac{(7,6 - 1,2) \times 0,1107 \times 4,157 \times 10}{400} \times 100\% \\&= 7,4\% \\&= 74 \text{ mg/g ekstrak}\end{aligned}$$

Jadi kadar tanin total dalam simplisia daun muda *A. occidentale* :

$$\begin{aligned}&= \frac{6,25 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 74 \text{ mg/g ekstrak} \\&= 9,25 \text{ mg/g simplisia}\end{aligned}$$

Lampiran7. Analisis Statistika Pengaruh Konsentrasi Terhadap Pengikatan Radikal Bebas menggunakan perbandingan rancangan faktorial dan uji BNT

Konsentrasi	Daya antiradikal bebas pada menit ke-					Total Kelompok
	5	15	30	45	60	
0,05%	59,2445	64,9970	73,0029	76,2086	86,1180	
	55,4150	62,1556	68,5496	71,7998	80,5406	
	56,6795	63,1086	60,4854	71,6598	74,9263	
Total Rata-rata	171,3390	190,2612	211,0379	219,6508	244,5849	1036,8738
	57,1130	63,4204	70,3460	73,2169	81,5283	69,1249
0,025%	45,1222	42,3670	45,0875	46,8030	49,8007	
	36,0769	41,5352	47,6867	51,0483	55,9348	
	39,3346	45,9416	51,6721	57,9622	64,4256	
Total Rata-rata	120,5337	129,8436	144,4463	156,8135	170,1611	720,7982
	40,1779	43,2812	48,1488	51,9318	56,7204	48,0532
0,0125%	18,9569	21,5387	22,2145	23,9646	26,6505	
	15,8725	19,1475	20,9843	21,9026	26,9450	
	16,2883	19,4594	23,7220	26,4425	29,5963	
Total Rata-rata	51,1177	60,1456	66,9208	72,3097	83,1918	333,6856
	17,0392	20,0485	20,3069	24,1032	27,7306	22,2457
0,00625%	14,0530	18,7662	18,7836	19,7539	22,1279	
	7,0698	8,4387	11,4192	12,9614	14,8848	
	5,7876	6,6713	11,9737	11,8870	13,9317	
Total Rata-rata	26,9104	33,8762	42,1765	44,6023	50,9444	198,5098
	8,9701	11,2921	14,0588	14,8674	16,9815	13,2340
Total Perlakuan	369,9008	414,1268	464,5815	492,3853	548,8822	2289,8766

## 1. Dengan notasi $Y_{ijk}$ dari hasil yang diamati

a = jumlah kelompok perlakuan

b = jumlah waktu perlakuan

r = jumlah replikasi

- $FK = \frac{(2289,8666)^2}{3 \times 4 \times 5} = 87392,247$
- $JK \text{ Total} = \{(59,2445)^2 + (55,4150)^2 + (56,6795)^2 + (63,1556)^2 + (63,1086)^2 + (73,0029)^2 + \dots + (13,9317)^2\} - FK$   
 $= \{3509,9108 + 3070,822 + 3212,5657 + 4095,6160 + 3988,6298 + 3982,6954 + \dots + 194,092\} - 87392,274$   
 $= 31541,2059$
- $JK \text{ Kelompok} = \frac{(1036,8738)^2 + (720,7982)^2 + \dots + (198,5098)^2}{3 \times 4} - FK$   
 $= \frac{174509}{12} - 87392,247$   
 $= 58058,5482$
- $JK \text{ waktu} = \left\{ \frac{(369,9008)^2 + (414,1268)^2 + \dots + (548,8822)^2}{3 \times 5} \right\} - FK$   
 $= \frac{1067878,532}{15} - 87392,247$   
 $= 16200,3449$
- $JK \text{ Perlakuan} = \left\{ \frac{(171,339)^2 + (190,2612)^2 + \dots + (50,9444)^2}{3} \right\} - FK$   
 $= \frac{354740,5792}{3} - 87392,247$   
 $= 30854,6173$

- JK Galat = JK Total – JKP  
= 31541,2059 – 30854,6173  
= 686,5886
- JK (KW) = JKP – JKK – JKW  
= 30854,6273 – 58058,5482 – 16200,3449  
= 43404,2758

## 2. Penentuan derajat bebas (db) untuk setiap sumber keragaman

$$\text{db total} = r.a.b - 1 = (3 \times 4 \times 5) - 1 = 59$$

$$\text{db perlakuan} = ab - 1 = (4 \times 5) - 1 = 19$$

$$\text{db kelompok} = a - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{db waktu} = b - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{db interaksi} = (a - 1)(b - 1) = 3 \times 4 = 12$$

$$\begin{aligned} \text{db galat} &= ab(r - 1) \\ &= 4 \times 5(3 - 1) \\ &= 40 \end{aligned}$$

## 3. Perhitungan Kuadrat Tengah

$$\text{KTk} = \frac{JKK}{dbK} = \frac{58058,5482}{3} = 19352,8494$$

$$\text{KTW} = \frac{JKW}{dbW} = \frac{16200}{4} = 4050,0862$$

$$\text{KTkw} = \frac{JKkw}{dbkw} = \frac{43404,2758}{4} = 10851,0689$$

$$\text{KTG} = \frac{JKg}{dbg} = \frac{686,5886}{40} = 17,1647$$

#### 4. Penentuan $F_{hitung}$

Untuk kelompok (K)

$$F_{hitung} = \frac{KTK}{KTG} = \frac{19352,8494}{17,1647} = 1127,4786$$

Untuk waktu (W)

$$F_{hitung} = \frac{KTW}{KTG} = \frac{4050,0862}{17,1647} = 235,9536$$

Untuk Interaksi

$$F_{hitung} = \frac{KT(kw)}{KTG} = \frac{10851,0689}{17,1647} = 633,1729$$

#### 5. Analisis Ragam Dari Hasil Perhitungan

SUMBER VARIASI	DB	JK	KT	Fh	FT	
					5%	1%
Perlakuan	59	30854,6173	-	-	-	-
Konsentrasi (k)	3	58058,5482	19352,8494	1127,4786**	2,84	4,31
Waktu (W)	4	16200,3448	4050,0862	235,9536**	2,61	3,83
Interaksi	12	43404,2757	10851,0689	632,1172**	2,00	2,66
Galat	40	686,5886	17,1647	-	-	-
Jumlah	118	149204,3746				

Keterangan : ( \*\*) Berbeda sangat nyata pada taraf  $\alpha = 0,01$

(\*) Berbeda nyata pada taraf  $\alpha = 0,05$

$$\text{Nilai Tengah (y)} = \frac{Tijk}{abr} = \frac{2289,8766}{4 \times 5 \times 3} = 38,1646$$

Koefisien keragamannya =

$$\begin{aligned} KK &= \frac{\sqrt{KT_{galat}}}{y} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{17,1647}}{38,1646} \times 100\% \\ &= 10,85\% \end{aligned}$$

Dari hasil analisis statistik diperoleh kesimpulan bahwa pengaruh konsentrasi dengan pengikatan radikal bebas sangat berbeda nyata ( $\alpha = 1\%$ ). Dengan nilai koefisien keragaman sebesar 10,85% maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

### A. Analisis antar perlakuan dilakukan dengan uji BNT

$$\begin{aligned} \bullet \text{ BNT } (0,05)_{40} &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \cdot (0,05)_{40} \\ &= \sqrt{\frac{17,1647}{3}} \cdot 2,021 \\ &= 4,8321 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \bullet \text{ BNT } (0,01)_{40} &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \cdot (0,01)_{40} \\ &= \sqrt{\frac{17,1646}{3}} \cdot 2,704 \\ &= 6,465 \end{aligned}$$



1. Konsentrasi 0,05%

Perlakuan :	W1	W2	W3	W4	W5
	57,1130	63,4204	70,3460	73,2169	81,5283

Perbandingan Antar Waktu Perlakuan	Wilayah (Range)	Nilai Pembanding Yang Sesuai		Hasil
		BNT 5%	BNT 1%	
W5 vs W1	24,4153	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W5 vs W2	18,1079	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W5 vs W3	11,1823	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W5 vs W4	8,3114	4,8322	6,465	Signifikan
W4 vs W1	16,1039	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W4 vs W2	9,7965	4,8322	6,465	Signifikan
W4 vs W3	2,8709	4,8322	6,465	Non Signifikan
W3 vs W1	13,233	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W3 vs W2	6,9256	4,8322	6,465	Signifikan
W2 vs w1	6,3074	4,8322	6,465	Signifikan

## 2. Konsentrasi 0,025%

Perlakuan :	W1	W2	W3	W4	W5
	40,1779	43,2812	48,1488	51,9378	56,7204

Perbandingan Antar Waktu Perlakuan	Wilayah (Range)	Nilai Pembanding Yang Sesuai		Hasil
		BNT 5%	BNT 1%	
W5 vs W1	16,5425	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W5 vs W2	13,4392	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W5 vs W3	8,5716	4,8322	6,465	Signifikan
W5 vs W4	4,7826	4,8322	6,465	Non Signifikan
W4 vs W1	11,7599	4,8322	6,465	Sangat Signifikan
W4 vs W2	8,6566	4,8322	6,465	Signifikan
W4 vs W3	3,789	4,8322	6,465	Non Signifikan
W3 vs W1	7,9709	4,8322	6,465	Signifikan
W3 vs W2	4,8676	4,8322	6,465	Signifikan
W2 vs w1	3,1033	4,8322	6,465	Non Signifikan

### 3. Konsentrasi 0,0125%

Perlakuan :	W1	W2	W3	W4	W5
	17,0392	20,0485	22,3069	24,1032	27,7306

Perbandingan Antar Waktu Perlakuan	Wilayah (Range)	Nilai Pembanding Yang Sesuai		Hasil
		BNT 5%	BNT 1%	
W5 vs W1	10,6914	4,8322	6,465	Signifikan
W5 vs W2	7,6821	4,8322	6,465	Signifikan
W5 vs W3	5,4237	4,8322	6,465	Signifikan
W5 vs W4	3,6274	4,8322	6,465	Non Signifikan
W4 vs W1	7,064	4,8322	6,465	Signifikan
W4 vs W2	4,0547	4,8322	6,465	Non Signifikan
W4 vs W3	1,7963	4,8322	6,465	Non Signifikan
W3 vs W1	5,2677	4,8322	6,465	Signifikan
W3 vs W2	2,2584	4,8322	6,465	Non Signifikan
W2 vs w1	3,0093	4,8322	6,465	Non Signifikan

4. Konsentrasi 0,00625%

Perlakuan :	W1	W2	W3	W4	W5
	8,9701	11,2921	14,0588	14,8674	16,9815

Perbandingan Antar Waktu Perlakuan	Wilayah (Range)	Nilai Pembanding Yang Sesuai		Hasil
		BNT 5%	BNT 1%	
W5 vs W1	8,0114	4,8322	6,465	Signifikan
W5 vs W2	5,6894	4,8322	6,465	Signifikan
W5 vs W3	2,9227	4,8322	6,465	Non
				Signifikan
W5 vs W4	2,1141	4,8322	6,465	Non
				Signifikan
W4 vs W1	5,0887	4,8322	6,465	Signifikan
W4 vs W2	3,5753	4,8322	6,465	Non
				Signifikan
W4 vs W3	0,8086	4,8322	6,465	Non
				Signifikan
W3 vs W1	5,0887	4,8322	6,465	Signifikan
W3 vs W2	2,7667	4,8322	6,465	Non
				Signifikan
W2 vs w1	2,322	4,8322	6,465	Non
				Signifikan