

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR POLIFENOL DAUN KETAPANG (*Terminalia Catappa L.*)

Octovianus SR Pasanda<sup>1</sup>, Sri Indriati<sup>2</sup>, Amri<sup>3</sup>, Andi Amar Ma'ruf<sup>4</sup>, Muhammad Tholhah Syahid Al Hayah<sup>5</sup>  
<sup>1,2,3,4,5</sup> *Jurusan Teknik Mesin Politeknik Negeri Ujung Pandang, Makassar*

### ABSTRACT

Ketapang trees are easy to find as shade trees for parks or roads because they have branched shady canopies. Ketapang belongs to the group of wild plants and not cultivated and has not been widely used so the economic value is still low. Ketapang leaves have antiparasitic, anti-fungal, and anti-inflammatory activities because contain flavonoid compounds, alkaloids, triterpenoids, phenolics and tannins. These compounds are referred as bioactive compounds. The bioactive components can be separated from the plant by using the extraction method. Conventional extraction generally takes a long time and large of energy, so more efficient methods are needed, one of which is using the ultrasonic extraction method with an ultrasonic bath tool. This study aims to determine the effect of temperature and extraction time using ultrasonic methods with methanol solvents in order to obtain ketapang leaf extract with maximum total phenolic content. The determination of the total phenol was carried out with UV-Vis and the characterization of the obtained compounds was carried out with GCMS. The results of the study, the best total phenol was obtained at 40 ° C of temperature for 50 minutes with a total phenol content is 213.29 mg EAG / g. while the characterization of phenol compounds are obtained compounds namely 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE; Squalene, and Vitamin E.

**Keywords:** *Ketapang leaves, extraction, ultrasonics, antioxidants, flavonoids*

### ABSTRAK

Pohon ketapang mudah ditemui sebagai pohon peneduh taman atau jalan karena memiliki tajuk rindang bercabang. Ketapang termasuk dalam kelompok tumbuhan liar dan tidak dibudidayakan dan belum banyak dimanfaatkan sehingga nilai ekonomisnya masih rendah.

Daun ketapang memiliki aktivitas antiparasit, anti jamur, dan anti-inflamasi karena mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, fenolik dan tanin. Senyawa ini disebut sebagai senyawa bioaktif. Komponen bioaktif dapat dipisahkan dari tanaman dengan menggunakan metode ekstraksi. Ekstraksi konvensional umumnya memakan waktu yang lama dan energi yang besar, sehingga diperlukan metode yang lebih efisien, salah satunya menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dengan alat ultrasonic bath. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu ekstraksi menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut metanol agar diperoleh ekstrak daun ketapang dengan kandungan fenolik total yang maksimal. Penentuan total fenol dilakukan dengan UV-Vis serta karakterisasi senyawa yang diperoleh dilakukan dengan GCMS. Hasil penelitian, total fenol terbaik diperoleh pada suhu 40°C selama 50 menit dengan kadar total fenol sebesar 213.29 mg EAG/g, sedangkan karakterisasi senyawa fenol diperoleh senyawa yaitu 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE; Squalene, dan Vitamin E.

**Kata Kunci:** *daun ketapang, ekstraksi, ultrasonik, antioksidan, flavonoid*

## 1. PENDAHULUAN

Pohon ketapang merupakan salah satu ~~adalah~~ tanaman serbaguna yang terdiri atas beberapa bagian seperti ~~dari~~ akar, batang, daun dan buah ~~dapat dimanfaatkan~~ [1]. Pohon ini tumbuh liar di daerah pantai dan sering ditanam di daerah dataran rendah sebagai peneduh dan pohon hias di perkotaan dan menghasilkan buah yang dapat di makan. *Terminalia catappa* berpotensi sebagai antibakteri karena mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu tanin, flavonoid dan saponin [2]. Tanin merupakan senyawa dalam daun ketapang yang memiliki efek untuk menstabilkan proses pembentukan kolagen. Tanin memiliki efek mengurangi pembentukan jaringan parut akibat adanya aktivitas antibakteri dan agiogenik.

Beberapa penelitian menunjukkan sifat daun ketapang yang memiliki efek kesehatan dapat dimanfaatkan sebagai antidepresan [3]; antibakteri [4]; [5]; [6] antimikrobia [7]; dan antifungi [8]. Selain itu, daun ketapang juga mampu mengobati penyakit kardiovaskuler, kulit, liver dan pernafasan [9]. Beberapa bagian pohon ketapang mengandung senyawa aktif seperti: fenol, flavonoid, steroid, tanin dan terpenoid [10], saponin, alkaloid [11].

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari buah dan daun ketapang telah banyak dipublikasikan, antara lain: [12], mengatakan tumbuhan ketapang dari familia combretaceous memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. [13], dalam penelitiannya menemukan bahwa fraksi petrolium eter dari daun dan buah ketapang

\* Korespondensi penulis: Octovianus SR Pasanda, email [o.pasandapnup@gmail.com](mailto:o.pasandapnup@gmail.com) dan [o.pasanda@yahoo.com](mailto:o.pasanda@yahoo.com)

memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi. [14] dalam penelitiannya mengatakan bahwa daun ketapang memiliki aktivitas penangkapan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazin (DPPH) yang lebih tinggi dibandingkan dengan benihnya.

Senyawa-senyawa aktif tersebut di atas dapat dipisahkan dari tanamannya dengan menggunakan proses ekstraksi. Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut [15]. Jenis pelarut dan lama waktu ekstraksi merupakan faktor yang mempengaruhi ekstraksi [16], yaitu mempengaruhi perolehan hasil kadar zat aktif serta pemakaian pelarut terbaik akan menjamin proses ekstraksi yang optimal. Keberhasilan proses pemurnian suatu ekstrak sangat erat kaitannya dengan rendemen, mutu dan kadar senyawa aktif yang dihasilkan [17].

Pemilihan jenis pelarut dilakukan dengan melihat derajat kepolarannya. Untuk mendapatkan pengestrak yang baik diperlukan pelarut yang memiliki polaritas yang sama dengan senyawa yang akan diekstrak karena senyawa polar hanya larut dengan baik dalam pelarut yang polar begitu pula senyawa nonpolar dapat larut dengan baik pada pelarut nonpolar. Derajat kepolaran suatu senyawa ditentukan oleh tetapan dielektriknya dimana senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang tinggi akan memiliki polaritas yang lebih tinggi, [18].

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini adalah pelarut polar yaitu metanol, karena dapat mengekstraksi senyawa polar dan nonpolar. Metanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik baik polar maupun nonpolar karena metanol memiliki gugus polar (-OH) dan non-polar(-CH). Adanya kedua gugus tersebut pada metanol diharapkan mampu mengekstrak senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda [19].

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi merupakan cara pemisahan komponen bioaktif dari larutannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut [19].

## 2. METODE PENELITIAN

Daun ketapang yang digunakan terlebih dahulu dibersihkan dengan menggunakan air bersih di bawah air mengalir untuk menghilangkan debu dan kotoran yang menempel, kemudian diangin-anginkan pada suhu ruang selama 3 hari dan dipotong-potong kecil agar cepat kering. Lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C sampai kering. Setelah kering, bahan dihaluskan sampai berbentuk bubuk/serbuk (simplisia). Kemudian simplisia disimpan dalam wadah tertutup dan tidak terkena cahaya, simplisia siap digunakan sebagai bahan penelitian.

Ekstraksi dilakukan dengan merendam simplisia dengan pelarut metanol didalam gelas beker dengan perbandingan massa dan volum pada pembuatan ekstrak yaitu 1:4 artinya 1gram simplisia dalam 4 ml pelarut metanol 99,8%. Waktu eksitasi dan amplitude diatur melalui panel generator sedangkan converter, probe dan sensor suhu juga diatur. Waktu eksitasi juga diartikan sebagai waktu ekstraksi (30, 40, 50, dan 60 menit). Suhu larutan akan dijaga (30°C, 40°C, 50°C) oleh thermostat. Hasil ekstraksi disaring dan dipisahkan ( $\pm 10$  mL) untuk karakterisasi Spektrofotometer UV-VIS. Hasil ekstrak kemudian dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 50° hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental dalam labu evaporasi ditimbang dan dipindahkan pada cawan petri. Ekstrak kental disimpan di dalam kulkas untuk dianalisa total fenolnya. Ekstrak daun ketapang hasil ekstraksi diencerkan dengan pengenceran 50 kali (0,5 mL: 25 mL), kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm dengan menggunakan metanol sebagai blangko.

Penentuan total fenol pada penelitian ini dilakukan dengan dua tahap sebagai berikut:

### a. Pembuatan Larutan Standar [21]

Ditimbang 50 mg asam galat, ditambahkan 1 mL etanol 96 %, lalu ditambahkan aquades sampai volume akhir 50 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/mL. Dari larutan induk asam galat konsentrasi 1 mg/mL dipipet 1 mL, 1,25 mL, 1,5 mL, 1,75 mL dan 2 mL, secara berturut turut lalu diencerkan dengan aquades sampai volume akhir 10 mL sehingga dihasilkan konsentrasi 100, 125, 150, 175, 200 µg/ml asam galat, secara berturut-turut. Dari masing-masing konsentrasi larutan asam galat dipipet 0,2 mL lalu ditambah 15,8 mL aquades dan 1 mL Reagen Folin-Ciocalteu dan dikocok sampai homogen serta didiamkan selama 8 menit. Ditambahkan 3 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% lalu dikocok homogen, dan selanjutnya didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/ml) dengan serapan.

### b. Penentuan Total Fenol pada Sampel [22]

Ditimbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan sampai 10 mL dengan aquades sehingga diperoleh konsentrasi 10 mg/mL. Dari konsentrasi 10 mg/mL dipipet 1 mL dan diencerkan dengan aquades hingga 10 mL dan diperoleh konsentrasi ekstrak 1 mg/mL. Dipipet 0,2 mL ekstrak, ditambahkan 15,8 mL aquades dan 1 mL reagen Folin–Ciocalteu lalu dikocok. Didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% ke dalam campuran. Didiamkan larutan selama 2 jam pada suhu kamar. Diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm. Dilakukan 3 (tiga) kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel.

Larutan sampel dibuat dengan menimbang ekstrak daun ketapang sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 10 ml metanol p.a untuk membuat larutan sampel pada masing-masing variasi ekstraksi 500 ppm. Larutan sampel kemudian diencerkan kedalam 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan menimbang 5 mg padatan DPPH dilarutkan dalam 100 ml methanol. Kemudian dibuatkan larutan pembanding 100 ppm dengan cara menimbang sebanyak 1 mg quercetin dilarutkan dalam 10 ml methanol. Larutan pembanding kemudian diencerkan menjadi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 7 ppm, dan 8 ppm.

Pengujian blanko dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Pengujian sampel dilakukan dengan memipet 0,5 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Pengujian perbandingan dengan quercetin dilakukan dengan memipet 0,5 ml larutan quercetin dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Ekstak kental daun ketapang dikarakterisasi dengan GCMS. Setelah diperoleh data, maka dilakukan analisis jenis senyawa yang tergolong senyawa fenolik dari semua senyawa yang terbaca pada GCMS.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel pada penelitian ini menggunakan sampel daun ketapang yang diperoleh dari lingkungan Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang. Preparasi sampel dilakukan dengan mengumpulkan daun ketapang lalu dibersihkan dengan kain kering untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun ketapang. Daun yang telah bersih kemudian diserbukkan dengan blender untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah masuknya cairan penyari pada proses ekstraksi. Sebelum dilakukan ekstraksi terlebih dahulu dilakukan penentuan kadar air yang bertujuan untuk menentukan kesegaran dan daya tahan suatu sampel.

#### Kadar air

Sampel diuapkan dalam cawan penguap dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 105°C. Penggunaan suhu ini dikarenakan untuk menguapkan air murni diperlukan suhu 100°C sehingga untuk menguapkan air yang terkandung dalam sampel harus menggunakan suhu diatas 100°C. Selanjutnya cawan yang berisi sampel ditaruh dalam desikator agar air yang masih tersisa teruapkan secara sempurna. Proses penguapan bertujuan untuk meminimalisir tumbuhnya jamur atau mikroba pada sampel yang nantinya dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Kemudian sampel ditimbang. Perlakuan tiap sampel tersebut diulang-ulang sampai diperoleh berat konstan, selisih berat sampel sebelum dan sesudah penunjukkan banyaknya air yang telah diuapkan. Dari analisa yang dilakukan, kadar air daun ketapang sebesar 5,3%, menurut Standar SII No. 0258-88 standar maksimum kadar air yang diperbolehkan 15%. Kadar air yang terlalu tinggi akan menyebabkan tumbuhnya mikroba dan menurunkan stabilitas ekstrak.

#### Persen Yield

Saat ini ekstraksi berbantuan ultrasonik secara luas digunakan sebagai metode baru untuk mengekstrak senyawa bioaktif dari tumbuhan alami karena mudah dipengaruhi oleh kekuatan ultrasonik. Penggunaan gelombang ultrasonik pada proses ekstraksi akan menghasilkan getaran ultrasonik, dimana akan mempermudah memecahkan dinding sel sehingga kandungan didalamnya dapat keluar lebih cepat [24]; [18]. Ekstak kental yang telah diperoleh dari hasil ekstraksi dihitung masing-masing yield-nya. yield ekstrak dihitung berdasarkan berat ekstrak (produk akhir) dibagi dengan berat awal sampel (sampel kering) dikalikan dengan 100%. Hasil perhitungan yield ini dapat dilihat pada Table 1.

Tabel 1 Persen *Yield* Ekstak Daun Ketapang

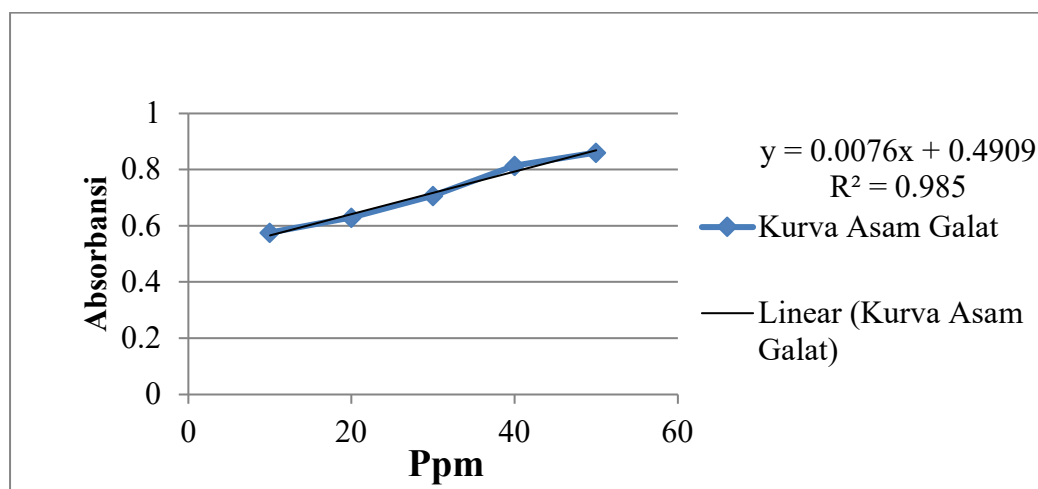
Variasi

Suhu (°C)	Waktu (menit)	Yield (%)
30	30	56.56
	40	56.95
	50	58.36
	60	48.40
40	30	57.59
	40	47.18
	50	61.18
	60	57.97
50	30	56.38
	40	59.18
	50	55.19
	60	58.35

Hasil ekstraksi dengan ultra sonik menunjukkan peningkatan yang tidak jelas terhadap perolehan yield pada perlakuan rasio suhu dan waktu seperti yang ditunjukkan table 1. Hal ini disinyalir proses perpindahan massa telah mencapai maksimum pada perlakuan (waktu  $\geq$  30 menit) dimana difusi dari pelarut ke interior matriks bahan tidak bisa lagi meningkatkan yield.

### Analisa Total Fenol

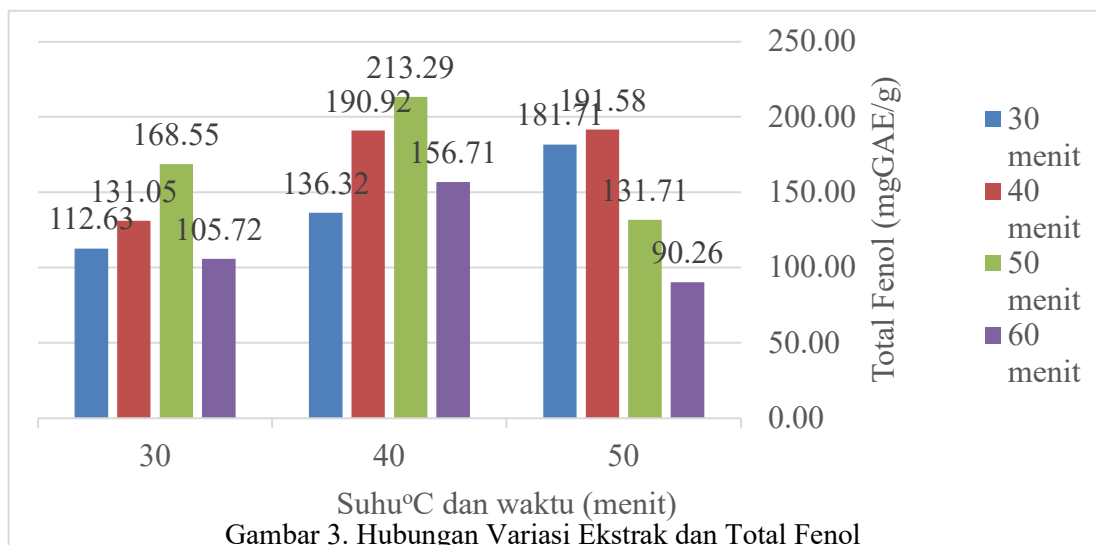
Analisa total fenol menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Senyawa fenolik akan mengoksidasi reagen folin-ciocalteu dan menghasilkan larutan berwarna biru atau senyawa kompleks molybdeum-tungsten yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang tertentu. Metode ini hanya dapat terjadi pada suasana basa, oleh karena itu digunakan natrium karbonat untuk membentuk suasana tersebut.



Gambar 2. Kurva Asam Galat

Penentuan panjang gelombang maksimum harus dilakukan agar mengetahui besarnya panjang gelombang yang diperlukan asam galat untuk mencapai serapan maksimum. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan menggunakan larutan asam galat sebagai standar analisis kuantitatif. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada 600-700 nm. Panjang gelombang yang didapat adalah 645 nm. Persamaan kuadrat asam galat yang diperoleh adalah  $y=0,0076x + 0,4909$  dengan  $R^2=0,985$  yang artinya mendekati linearitas. Data lengkap hasil absorbansi pengukuran dapat dilihat Gambar 2.

Kadar fenolik sampel dihitung melalui persamaan garis  $y = bx + a$ . Hasilnya menunjukkan bahwa total senyawa fenolik terbanyak terdapat pada perlakuan suhu 40°C dengan waktu ekstraksi 50 menit yakni sebesar 213.29 mgGAE/g.



Hasil yang diperoleh pada Gambar 3. menunjukkan semakin lama waktu ekstraksi, kadar fenol semakin tinggi untuk perlakuan suhu 30 dan 40°C dengan waktu yang terbaik pada menit ke 50, sedangkan pada menit 60 mulai terjadi penurunan. Hal ini terjadi karena dengan meningkatnya suhu maka peningkatan porositas material akan meningkat mengakibatkan solvasi naik lebih tinggi sehingga perpindahan massa semakin besar [25]. Ini juga dikonfirmasi oleh [26]; [27]; [28] yang mengamati peningkatan serupa dalam hasil ekstraksi komponen fenolik dari sampel sebagai akibat dari peningkatan suhu ekstraksi. Meskipun peningkatan suhu dapat mempercepat aktivitas termal dan mempercepat kelarutan ekstrak, suhu yang lebih tinggi (40°C) menghasilkan penurunan intensitas kavitas. Karakteristik fisik pelarut seperti tegangan permukaan, tekanan uap dan viskositas adalah faktor utama yang mempengaruhi intensitas kavitas, dan tekanan uap adalah faktor penting di antara sifat-sifat ini [29]. Pengaruh Suhu menunjukkan efek positif yang berkorelasi pada tekanan uap, oleh karena itu, kenaikan suhu menyebabkan peningkatan tekanan uap pelarut molekul dalam kavitas mikro-bubbles [30]; [31], menyebabkan juga penurunan intensitas kavitas. Dengan demikian, suhu adalah variabel sensitif untuk ekstraksi ultrasonik daun ketapang, dan yang optimal adalah suhu 40°C yang memberikan hasil ekstraksi tertinggi daun ketapang. Pada kondisi tersebut efek kavitas dan efek termal berada dalam keadaan setimbang dengan variasi suhu. Peningkatan perpindahan massa antara pelarut dengan matriks tanaman oleh kavitas terus terjadi selama proses ekstraksi.

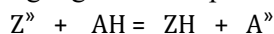
Total fenol yang diperoleh ketika keadaan setimbang terjadi sebesar 213.29 mgGAE/g. Runtuhnya gelembung kavitas dalam cairan disertai dengan pelepasan sejumlah besar energi. Dengan demikian menyebabkan sel matriks terganggu melalui generasi mikrojet ke permukaan padat sehingga menciptakan hotspot yang secara dramatis dapat mempercepat reaktivitas kimia ke dalam cairan dan juga dapat membuka dinding sel jaringan daun ketapang untuk mempermudah pelepasan total fenol ke dalam media. Menurut [32], peningkatan suhu juga mengurangi tegangan permukaan dan viskositas dalam ekstrak, sehingga meningkatkan hasil ekstraksi. Senyawa fenolik semakin berkurang dengan naiknya suhu dan waktu ekstraksi, terlihat pada perlakuan suhu 50°C dan waktu ekstraksi 60 menit diperoleh total fenol hanya 90.26 mgGAE/g. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh [33]. Dai dan Mumper mengamati bahwa viskositas dan tegangan permukaan pelarut berkurang pada suhu yang lebih tinggi. Terlepas dari kelebihannya, banyak senyawa fenolik yang mudah terhidrolisis dan teroksidasi pada suhu yang lebih tinggi, terutama ketika diekstraksi selama periode yang diperpanjang [34]; [33]. [35] menunjukkan bahwa kandungan fenolik total dalam ekstrak menurun dengan meningkatnya suhu ekstraksi karena degradasi oksidatif. Sensitivitas dari polifenol ke suhu tinggi juga ditunjukkan oleh [36]. Havlikova dan Mikova mengamati waktu ekstraksi berlangsung pada suhu tinggi menyebabkan degradasi polifenol, dengan begitu maka perlu untuk memilih suhu ekstraksi yang efektif agar menjaga stabilitas senyawa fenolik. Penting juga untuk menyebutkan bahwa sensitivitas sampel terhadap degradasi polifenol yang diinduksi suhu tergantung pada jenis senyawa polifenol yang tersedia dalam ekstrak atau matriks tanaman, dan karakteristik fisikokimia dan biokimianya, serta interaksi pelarut dengan sampel.

### Analisa Antioksidan Menggunakan DPPH

Antioksidan juga diproduksi oleh sistem biologis dan terjadi secara alami pada beberapa bahan makanan dan keseimbangan antara oksidan dan antioksidan menentukan kesehatan dan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. [37]. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan fenolik/favonoid, senyawa  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokoferol, lesitin, vitamin E, vitamin C dan  $\beta$ -karoten [38]. Oleh karena itu penting untuk mengetahui kandungan antioksidan dan khasiatnya dalam makanan, untuk pengawetan atau perlindungan terhadap kerusakan oksidatif, untuk menghindari perubahan yang merusak dan hilangnya komersial dan nilai gizi [37]. Dengan demikian diperlukan pengembangan suatu metode yang cepat untuk menentukan kapasitas antioksidan potensial di berbagai makanan.

Analisa antioksidan menggunakan DPPH adalah analisa dengan metode spektrofotometri yang menilai seberapa banyak radikal bebas yang ditangkap oleh senyawa antioksidan dalam sampel. DPPH adalah radikal bebas murni yang stabil dan dapat bereaksi dengan atom hidrogen dari suatu senyawa antioksidan [39]. DPPH yang berwarna ungu atau violet ketika dikontakkan dengan senyawa antioksidan akan mengambil donasi atom hidrogen yang menyebabkan peluruhan warna menjadi warna kuning [40]. Metode DPPH dikembangkan oleh [41] dengan maksud untuk menentukan aktivitas antioksidan karena senyawa DPPH memiliki karakter sebagai radikal bebas yang stabil dari -difenil- $\beta$ - pikrilhidrazil (DPPH;  $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ,  $M=394.33$ ). Elektron ganjil dari atom nitrogen dalam DPPH direduksi dengan menerima atom hydrogen yang sesuai dari antioksidan ke hidrazin [42]. DPPH dicirikan sebagai radikal bebas yang stabil hal ini disebabkan oleh adanya delokalisasi dari elektron cadangan yang melingkupi molekulnya secara keseluruhan sehingga molekul tidak terdimerisasi seperti kebanyakan radikal bebas lainnya. Delokalisasi juga memberikan warna ungu tua yang tajam dengan penyerapan dalam larutan etanol atau metanol sekitar  $\lambda = 517$  nm

Pada perendaman larutan DPPH dengan suatu zat yang dapat mendonorkan atom hidrogen, menimbulkan bentuk tereduksi dengan hilangnya warna ungu. Mewakili radikal DPPH oleh  $Z^{\bullet}$  dan molekul donor oleh AH, seperti yang digambarkan pada reaksi utama di bawah ini

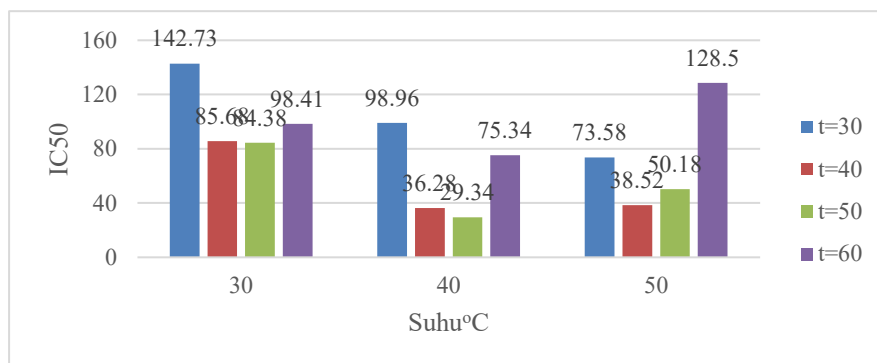


di mana ZH adalah bentuk tereduksi dan  $A^{\bullet}$  adalah radikal bebas dihasilkan pada langkah awal. Radikal terakhir akan menjalani reaksi lebih lanjut yang mengontrol secara stoikiometri keseluruhan reaksi. Oleh karena itu, reaksi di atas dimaksudkan untuk memberikan hubungan dengan reaksi yang terjadi dalam sistem pengoksidasi [43].

Metode DPPH adalah cara yang cepat, sederhana, murah dan banyak digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa yang bertindak sebagai radikal bebas atau hidrogen donor, dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada bahan makanan. Ini juga dapat digunakan untuk mengukur antioksidan dalam sistem biologis yang kompleks, untuk zat padat atau sampel cair. Cara ini mudah dan berlaku untuk mengukur kapasitas seluruh antioksidan. Keuntungan dari metode ini adalah DPPH dibiarkan bereaksi dengan keseluruhan sampel dengan waktu yang cukup sehingga memungkinkan DPPH bereaksi lambat bahkan dengan antioksidan lemah sekalipun [44]. Metode DPPH dapat digunakan dalam air dan pelarut organik nonpolar atau keduanya dapat digunakan untuk menguji antioksidan hidrofilik dan lipofilik [45].

Kemampuan penangkapan radikal DPPH oleh komponen polifenol ini juga dapat dihubungkan dengan kemampuan komponen polifenol dalam menyumbang hidrogen. Kemampuan menyumbang hidrogen beberapa grup hidroksil dalam struktur katekin atau theaflavin sangat erat hubungannya dengan kemampuan polifenol tersebut dalam menangkap radikal bebas

Pengukuran aktivitas antioksidan dinilai dari Inhibitor Concentration 50 (IC50). IC50 adalah nilai yang menunjukkan konsentrasi inhibitor yang diperlukan untuk menghambat senyawa radikal bebas setengahnya, dengan kata lain, semakin besar nilai IC50 semakin kecil nilai aktivitas antioksidan yang didapat. Menurut [46], suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai  $IC_{50} < 10$   $\mu\text{g/mL}$ , kuat apabila nilai  $IC_{50}$  antara 10-50  $\mu\text{g/mL}$ , sedang apabila nilai  $IC_{50}$  berkisar antara 50-100  $\mu\text{g/mL}$ , lemah apabila nilai  $IC_{50}$  berkisar antara 100-250  $\mu\text{g/mL}$  dan tidak aktif apabila  $IC_{50}$  diatas 250  $\mu\text{g/mL}$ . Berikut adalah hasil pengujian antioksidan daun ketapang.

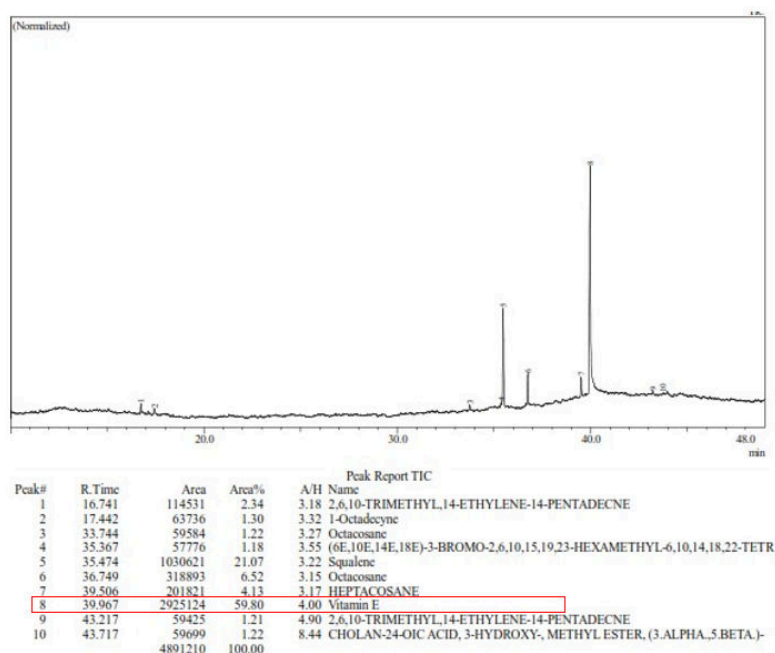


Gambar 4. Hubungan antara suhu dan waktu ekstraksi sonikasi terhadap nilai IC50

Pada Gambar 4 perbandingan antara IC50 dengan variasi suhu dan waktu menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi ada pada suhu 40°C menit 50 dengan 29,34 µg/mL. Sedangkan aktivitas antioksidan terlemah ada pada suhu 30°C menit 30 sebanyak 142.73 µg/mL. Namun, menurut Molyneux (2004), bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC50 yang diperoleh berkisar antara 200-1000 µg/mL, dimana zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Dari hasil yang diperoleh untuk semua perlakuan bisa dikatakan aktivitas antioksidan yang diperoleh masih tergolong aktif. Namun suhu ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan, seperti terlihat pada gambar 4 semakin tinggi suhu ekstraksi maka semakin besar aktivitas antioksidan. Pada suhu 30, 40, dan 50°C angka kenaikan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tiap variasi waktu sampai dengan waktu tertentu, lalu terjadi pengurangan nilai aktivitas antioksidan. Senyawa yang bersifat antioksidan berhenti terekstrak saat keadaan sudah mencapai titik ekulibrium, kemudian suhu tinggi akan merusak senyawa bersifat antioksidan yang pada umumnya adalah senyawa fenolik.

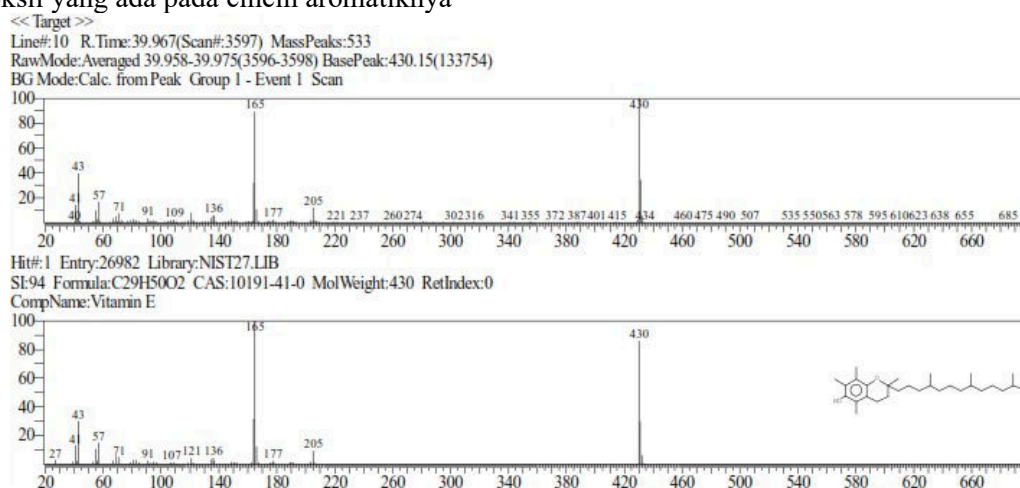
### Karakteristik Senyawa Bioaktif (Analisa GC-MS)

Identifikasi senyawa bioaktif dilakukan menggunakan analisa Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Metode digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa, baik satu komponen maupun campuran. GC-MS memiliki kemampuan untuk memisahkan, mendeteksi, dan mengidentifikasi berbagai senyawa volatil dan semi-volatil dengan akurat [47]. Pengidentifikasi senyawa dicocokkan dengan bank data dari National Institute Standart and Technology (NIST) yang memiliki lebih dari 62,000 data pada penyimpanannya, sehingga hasil yang didapat berupa nama, berat molekul, dan struktur dari komponen yang menyusun senyawa tersebut [48]. Berikut adalah hasil analisa GC-MS daun ketapang.



Gambar 5. Kromatogram GC-MS

Gambar 5 adalah hasil analisa GC-MS daun ketapang yang memperlihatkan ada 10 peak dengan 9 komponen senyawa bioaktif didalamnya. Pembacaan kromatogram hingga didapat kandungan senyawa didalamnya dimulai dengan melihat peak pada spektrogram, semakin tinggi peak pada spektrogram menandakan bahwa semakin besar %Area menunjukkan semakin banyak senyawa tersebut didalam sampel. Data tersebut kemudian dicocokkan dengan spektrogram dari Mass Spectrometer yang menyebutkan nama senyawa tersebut. Peak tertinggi yang didapat pada penelitian ini yakni peak 8, yaitu Vitamin E dengan % Area 59,80%. Vitamin E adalah salah satu vitamin yang paling banyak dikomersilkan, vitamin E yang bersifat antioksidan memiliki beberapa kegunaan diantaranya yaitu antikanker dan anti penyakit kardiovaskular [49]. Vitamin E dapat digolongkan sebagai senyawa fenolat. Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai senyawa fenol jika memiliki gugus hidroksil yang ada pada cincin aromatiknya



Gambar 6. Spektrogram peak 8 senyawa Vitamin E

Selain vitamin E yang memiliki % Area terbesar pada hasil analisa GC-MS daun ketapang, terdapat beberapa senyawa bioaktif yang diketahui memiliki kegunaan yang baik untuk kesehatan, yaitu: **1)** 2,6,10-trimethyl,14-ethylene-14-pentadecne, **2)** Squalene, dan **3)** cholan-24-oic acid, 3-hydroxy-, methyl ester, (3 alpha, 5 beta). Penelitian [48] tentang analisa GC-MS fitokomponen dari ekstrak metanol tanaman prasman, dijelaskan bahwa senyawa 2,6,10-trimethyl,14-ethylene-14-pentadecne berfungsi untuk antiproliferatif. Squalene atau skualena adalah senyawa triterpenoic hidrokarbon yang tersebar di alam, skualena dapat ditemukan pada olive oil, palm oil, amaranth oil, dan lain sebagainya. Skualena berguna untuk antioksidan dan suplemen [50]. cholan-24-oic acid, 3-hydroxy-, methyl ester, (3 alpha, 5 beta) disebut dengan nama Lithocholic acid (LCA) adalah asam empedu yang bertindak sebagai deterjen untuk melarutkan lemak yang penyerapan di usus. LCA menunjukkan efek perlindungan yang cukup besar pada lingkungan usus, efek anti- bakteri, dan antiinflamasi [51].

#### 4. KESIMPULAN

Perlakuan metode ekstraksi sonikasi terbesar diperoleh pada sampel variasi suhu 40°C dan waktu 50 menit dengan total fenol 213.29 mgGAE/g dan sifat antioksidan kuat dengan IC<sub>50</sub> sebesar 29,34 µg/mL. Identifikasi karakteristik komponen bioaktif pada ekstrak daun ketapang terdapat beberapa golongan komponen bioaktif, dimana komponen terbesar adalah vitamin E.

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Direktur Politeknik Negeri Ujung Pandang melalui Dana DIPA selaku penyandang dana, dan kepada seluruh staf Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang serta adik-adik mahasiswa atas semua bantuannya dilaboratorium.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

[1] Hevira L., Munaf E., Zein R., The use of Terminalia catappa L. fruit shell as biosorbent for the removal of Pb (II), Cd (II) and Cu (II) ion in liquid waste. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(10):79-89, 2015.



- [2] Purwani, I, Kristanti. et.al., In Vitro Potential Test of Ketapang (*Terminalia catappa*) Leave Extract against *Aeromonas salmonicida*. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*. 5 (7): 1-2, 2015.
- [3] Chandrasekhar, Y., Ramya, E. M., Navya, K., Phani Kumar, G., & Anilakumar, K. R., Antidepressant like effects of hydrolysable tannins of *Terminalia catappa* leaf extract via modulation of hippocampal plasticity and regulation of monoamine neurotransmitters subjected to chronic mild stress (CMS). *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 86(2017), 414–425. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.031>, 2017.
- [4] Akharaiyi, F. C., Ilori, R. M., & Adesida, J. A., Antibacterial effect of *Terminalia catappa* on some selected pathogenic bacteria. *International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research*, 2(2), 64–67, 2011.
- [5] Poongulali, S., & Sundararaman, M., Antimycobacterial, anticandidal and antioxidant properties of *Terminalia catappa* and analysis of their bioactive chemicals. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 6(2), 69–83, 2016.
- [6] Timothy, S. Y., T.A.S., M., M.Y., S., & A.M., M., Phytochemical screening and antibacterial potential of the leaf extracts of *Terminalia catappa*. *Advances in Biomedicine and Pharmacy*, 02(05), 223–228. <https://doi.org/10.19046/abp.v02i05.04>, 2015.
- [7] Chanda, S., Rakholiya, K., & Nair, R., Antimicrobial Activity of *Terminalia catappa* L. Leaf Extracts against Some Clinically Important Pathogenic Microbial Strains. *Chinese Medicine*, 02(04), 171–177. <https://doi.org/10.4236/cm.2011.24027>, 2011.
- [8] Terças, A. G., Monteiro, A. de S., Moffa, E. B., dos Santos, J. R. A., de Sousa, E. M., Pinto, A. R. B., Costa, P. C. d. S., Borges, A. C. R., Torres, L. M. B., Barros Filho, A. K. D., Fernandes, E. S., & Monteiro, C. de A., Phytochemical characterization of *Terminalia catappa* Linn. extracts and their antifungal activities against *Candida* spp. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00595>, 2017.
- [9] Thomson, L. A., & Evans, B., *Terminalia catappa* (tropical almond). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*, 2(2), 1-20, 2006.
- [10] Packirisamy, P., Vijayalakshmi Krishnamorthi, Evaluation of Proximate Composition and Phytochemical analysis of *Terminalia catappa* L. from Nagapattinam Region. *International Journal of Science and Research*, 2012.
- [11] Ramadhian MR, Soleha TU, Hanriko R, Azkia HP. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap Kepadatan Serabut Kolagen pada Penyembuhan Luka Sayat Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Agromedicine*, 4(1):17–24, 2017.
- [12] Kinoshita dkk., Antioxidant and Hepatoprotective Actions of Medicinal Herb, *Terminalia Catappa* L. from Okinawa Island and its Tannin Corilagin. *Journal Phytomedicine*. 14: 755-762, 2007.
- [13] Naz, S., Structure and Functionality of The Pigments Isolated from *Onosma hispidum* (Ratanjot), *Terminalia catappa* (Jangli Badam), and Other Tropical Plants. Tesis. Universitas Karachi. <http://pr.hec.gov.pk/Chapters/1025-0.pdf>, 2005.
- [14] Ko, T.F., Weng, Y.M, dan Chiou, R.Y.Y., Squalene Content and Antioxidant Activity of *Terminalia catappa* Leaves and Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(19): 5343-5348. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0203500>, 2002.
- [15] Ansel, Howard, C., Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi (Edisi 4). Jakarta: Universitas Indonesia Press, 2008.
- [16] Thoo YY, Ho SK, Liang JY, Ho ChW, Tan ChP., Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chemistry*. 120(1): 290-295, 2010.
- [17] Hernani, Marwati, T., & Winarti, C., Pemilihan Pelarut Pada Pemurnian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) Secara Ekstraksi. *Jurnal Pascapanen*, 4(1): 1-8, 2007.
- [18] Octovianus SR Pasanda, Muallim Syahrir, Sri Indriati, Ahmad Fauzi, Celine Adelia, Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*) Dengan Metode Ultrasonic Bath'. Prosiding 5th Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat, 2001.
- [19] Harborne, J.B., Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Terbitan Kedua, Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Bandung, ITB, 1987.
- [20] Sholihah, M., Usman, A. & I Wayan, B., Aplikasi gelombang ultrasonik untuk meningkatkan rendemen ekstraksi dan efektivitas antioksidan dan kulit manggis. *Jurnal Keteknik Pertanian*. 5(2), 161-168, 2017.

- [21] Waterhouse, A., Folin Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine, *Amj Enol Viticult*, 28: 1-3, 1999.
- [22] Orak H., Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities in red grape varieties. *Electronic Journal of Polish Agricultural University Food Science and Technology*. 9: 117 – 118, 2006.
- [23] Fitriani Nur, U. A., Yusuf, M., Pirman, Syahriati, & Rahmiah, S., Physicochemical, antioxidant and sensory properties of chocolate spread fortified with jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) flour. *Food Research*, 4(6), 2147–2155, 2020.
- [24] Octovianus SR. Pasanda, Abdul Azis, Sulistiawati, Tri S., “Ekstraksi Rumput Laut (*Sargassum* Sp) Dengan Ultrasonik Menghasilkan Natrium Alginat”. *Prosiding 4th Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat*, 2020.
- [25] Maran, J. P., Manikandan, S., Vigna, N. C., & Dinesh, R. (2017). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1145–S1157. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.007>.
- [26] Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., Dasari, M. R., & Lightfoot, D. A. (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PloS One*, 11(2), e0148758. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148758>.
- [27] Li, Y., Lai, P., Chen, J., Shen, H., Tang, B., Wu, L., et al. (2016). Extraction optimization of polyphenols, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities from *Prunus salicina* Lindl. *Food Science and Technology*, 36(3), 520–525. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0022>.
- [28] Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., & Mason, T. J. (2001). Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(2), 137–142. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(00\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(00)00033-X).
- [29] S. Hemwimol, P. Pavasant, A. Shotipruk, Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*, *Ultrason. Sonochem.* 13 (2006)543–548.
- [30] S. Zhao, K. Kwok, H. Liang, Investigation on ultrasound-assisted extraction of saikosaponins from *Radix Bupleuri*, *Sep. Purif. Technol.* 55 (2007) 307–312.
- [31] Y. Ma, J. Chen, D. Liu, X. Ye, Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: effect of ultrasound, *Ultrason. Sonochem.* 16 (2009) 57–62.
- [32] Dzah, C. S. (2014). Influence of fruit maturity on antioxidant potential and chilling injury resistance of peach fruit (*Prunus persica*) during cold storage. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 14(4), 9578–9591. <http://www.ajfand.net/Volume14/No7/Dzah13600.pdf>.
- [33] Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- [34] Bi, J., Yang, Q., Sun, J., Chen, J., & Zhang, J. (2011). Study on ultrasonic extraction technology and oxidation resistance of total flavonoids from peanut hull. *Food Science and Technology Research*, 17(3), 187–198.
- [35] Akowuah, G. A., Mariam, A., & Chin, J. H. (2009). The effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of *Gynura procumbens* leaf. *Pharmacognosy Magazine*, 5, 81–85. Available at: <http://www.phcog.com/text.asp?2009/5/17/81/57991>.
- [36] Havlikova, L., & Mikova, K. (1985). Hitzestabilität von Anthocyane (in German). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, 181, 427–432. <https://doi.org/10.1007/BF01027412>.
- [37] Halliwell B (1996) Oxidative stress, nutrition and health. *Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans*. *Free Rad Res* 25(1):57–74.
- [38] Jovanovic, S.V. 2001. How Curcumin Works Preferentially with Water soluble Antioxidants. *J.Am.Chem.Soc*, 123, 3064-3068.
- [39] Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH Antioxidant Assay Revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202–1205
- [40] Molyneux P (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 26(2):211–219.
- [41] Blois MS (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199–1200
- [42] Contreras-Guzman ES, Strong FC (1982) Determination of tocopherols (Vitamin E) by reduction of cupric ion. *JAOAC* 65:1215–1222

- [43] Sagar B. Kedare & R. P. Singh, (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay J Food Sci Technol (July–August 2011) 48(4):412–422
- [44] Prakash A (2001) Antioxidant activity. Med Lab Anal Prog 19(2):1–6
- [45] Prior RL, Wu X, Schaich K (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J Agri Food Chem 53:4290–4302
- [46] Phongphaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai N., Jariya, S., 2007. Biological activities of extract from endophytic fungi isolated from Garcinia plants, FEMS Immunol Med Microbial
- [47] Maštovská, K., & Lehotay, S. J. (2003). Practical approaches to fast gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1000(1-2), 153–180. doi:10.1016/s0021-9673(03)00448-5
- [48] Selvamangai, G., & Bhaskar, A. (2012). GC–MS analysis of phytocomponents in the methanolic extract of Eupatorium triplinerve. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(3), S1329–S1332. doi:10.1016/s2221-1691(12)60410-9
- [49] Rizvi S, Raza ST, Ahmed F, Ahmad A, Abbas S, Mahdi F. The role of vitamin e in human health and some diseases. Sultan Qaboos Univ Med J. 2014 May;14(2):e157-65. Epub 2014 Apr 7. PMID: 24790736; PMCID: PMC3997530.
- [50] Spanova, M., & Daum, G. (2011). Squalene–biochemistry, molecular biology, process biotechnology, and applications. European journal of lipid science and technology, 113(11), 1299-1320.
- [51] Sheng, W., Ji, G., & Zhang, L. (2022). The Effect of Lithocholic Acid on the Gut-Liver Axis. Frontiers in Pharmacology, 2616.