

**UJI *IN VITRO* ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK HASIL
SOXHLETASI DAN FRAKSI DARI KEMBANG BULAN
(*Tithonia diversifolia*)**



FELICIA ANDRYANA

2443012039

PROGRAM STUDY S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**UJI *IN VITRO* ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK HASIL
SOXHLETASI DAN FRAKSI DARI KEMBANG BULAN
(*TITHONIA DIVERSIFOLIA*)**

SKRIPSI

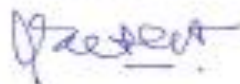
Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

**OLEH:
FELICIA ANDRYANA**

2443012039

Telah disetujui pada tanggal 16 Januari 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



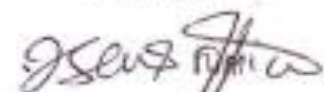
Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.
NIK. 241.98.0351

Pembimbing II,



Senny Y. Esar, S.Si., M.Si., Apt.
NIK. 241.01.0520

Mengetahui,
Ketua Penguji



Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt
NIK 241.03.0558

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: Uji *in vitro* Antioksidan pada Ekstrak Hasil Soxhletasi dan Fraksi dari Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 17 Februari 2017



Felicia Andryana
2443012039

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 17 Februari 2017



Felicia Andryana
2443012039

ABSTRAK

UJI *IN VITRO* ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK HASIL SOXHLETASI DAN FRAKSI DARI KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*)

Felicia Andryana
2443012039

Pada penelitian ini telah dilakukan uji *in vitro* antioksidan pada ekstrak dan fraksi dari kembang bulan (*Tithonia diversifolia*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan dari ekstrak ataupun fraksi dan membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak terhadap hasil fraksinasinya. Simplisia yang digunakan untuk ekstraksi sudah terstandarisasi dilakukan ekstraksi menggunakan metode soxhletasi dengan pelarut etanol 96% kemudian difraksinasi dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrasil*). Hasil skrining fitokimia diketahui bahwa *Tithoniae* Herba mengandung alkaloid, tanin, saponin, flavonoid dan steroid. Hasil KLT ekstrak dan fraksi dengan penyemprotan larutan DPPH 0,13% didapatkan bahwa pada fraksi etil asetat dan fraksi air yang berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa yang memiliki daya antioksidan dari fraksi dan ekstrak diduga adalah golongan senyawa polifenol (tanin dan flavonoid). Hasil pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan Multiskan Go spektrofotometer menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terkuat dengan IC_{50} $52,52 \pm 1,54$ ppm; dibandingkan dengan ekstraknya dengan IC_{50} $155,38 \pm 3,27$ ppm; IC_{50} fraksi n-heksan dengan $209,40 \pm 5,37$ ppm; dan fraksi air $153,09 \pm 1,70$ ppm; sementara nilai IC_{50} pembanding rutin dan vitamin C masing-masing $12,94 \pm 0,79$ ppm dan $11,09 \pm 0,32$ ppm.

Kata kunci : *in vitro*, antioksidan, DPPH, soxhletasi, *Tithonia diversifolia*

ABSTRACT

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MEXICAN SUNFLOWER (*Tithonia diversifolia*) EXTRACTS PREPARED BY SOXHLETATION AND FRACTIONATION

Felicia Andryana

2443012039

This research has been conducted on the *in vitro* antioxidants of extract and fractions of Mexican Sunflower (*Tithonia diversifolia*). The purpose of this research was to obtain the antioxidant capacity of secondary metabolic compounds; and to compare the antioxidant from its extract and fractions. Dried herbs of the plant standardized and extracted by soxhletation methods with ethanol 96%. Extract was then fractionated by liquid-liquid extraction with n-hexane and ethyl acetate solvents. Antioxidant capacity was performed with the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Phytochemical screening results was showed that *Mexican Sunflower* contained alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and steroid. The TLC autography screening of antioxidants was showed that ethyl acetate and water fraction were as potential antioxidant. The antioxidant compounds in extract and fractions antioxidant were supposed as polyphenols compounds (tannin and flavonoid). The results of antioxidant capacity quantitatively was measured using 96 well Multiscan Go spectrophotometer method. The result was showed that ethyl acetate fraction as most active antioxidant (IC_{50} 52.52 ± 1.54 ppm), ethanol extract (155.38 ± 3.27 ppm), n-hexane fraction (209.40 ± 5.37 ppm) and water fraction (153.09 ± 1.70 ppm); while IC_{50} rutin and vitamin C as antioxidant reference compounds are 12.94 ± 0.79 ppm and 11.09 ± 0.32 ppm.

Keywords : *in vitro*, antioxidant, DPPH, soxhletation, *Tithonia diversifolia*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penelitian dan skripsi dengan judul **Uji *in vitro* Antioksidan pada Ekstrak Hasil Soxhletasi dan Fraksi dari Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*)** dapat terselesaikan. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian senyawa antioksidan *Tithonia diversifolia* untuk mencegah komplikasi penyakit diabetes melitus (Laboratorium Penelitian dan Fitokimia Fakultas Farmasi UKWMS, 2016-2017). Penyusunan skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt selaku Pembimbing I dan Senny Y. Esar., S.Si., M.Si., Apt selaku Pembimbing II, yang telah menyediakan waktu dan tenaga, serta memberikan pengarahan dan pemikiran yang sangat berharga selama penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.
2. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt. dan Dra. Emi Sukarti, MS., Apt selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
3. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi beserta seluruh staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bantuan selama ini.
4. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si selaku Ketua Program Studi Strata 1 Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

5. Caroline Wijono, S.Si., M.Si., Apt selaku penasehat akademik yang telah mendampingi, memberikan motivasi dan saran-saran.
6. Ketua Laboratorium Fitokimia-Farmakognosi, Ketua Laboratorium Botani, dan Ketua Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bantuan dalam hal peminjaman peralatan dan tempat untuk melaksanakan penelitian ini.
7. Seluruh staf tata usaha dan laboran Fakultas Farmasi yang telah banyak membantu dalam segala hal hingga terselesaikan naskah skripsi ini.
8. Kedua orang tua tercinta : Papa (John Andre) dan Mama (Henny Suyanti) terima kasih untuk seluruh cinta, kesabaran, pengorbanan, dukungan moril maupun materiil, juga untuk kakak dan adik saya.
9. Sahabat yang memberikan bantuan, semangat dan motivasi yaitu Anggia S.Soenjoyo, Kak Made, Erni, Devina, Marcell, Meily, Can family, teman-teman Kairos GKT Bumper, ko chipz dan teman-teman kost.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, 17 Februari 2017

Felicia Andryana

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Hipotesis	6
1.5 Manfaat	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan tentang Radikal Bebas	8
2.2 Tinjauan tentang Antioksidan	9
2.2.1 Pengertian dan Mekanisme Reaksi	
Antioksidan	9
2.2.2 Penggolongan Antioksidan	9
2.2.3 Status Oksidatif pada Diabetes	
Melitus.....	11
2.3 Tinjauan tentang Kembang Bulan	
(<i>Tithonia diversifolia</i>)	11
2.3.1 Klasifikasi	11

	Halaman
2.3.2 Nama Daerah dan Nama Asing	12
2.3.3 Habitat	12
2.3.4 Morfologi	12
2.3.5 Khasiat dan Penggunaan	13
2.3.6 Kandungan	14
2.3.7 Mikroskopis	14
2.4 Tinjauan tentang Metabolit Sekunder	16
2.4.1 Flavonoid	16
2.4.2 Polifenol	16
2.4.3 Rutin	17
2.4.4 Vitamin C	18
2.5 Tinjauan tentang Simplisia	19
2.6 Tinjauan Metode Ekstraksi	19
2.6.1 Maserasi	20
2.6.2 Perkolasi	20
2.6.3 Refluks	21
2.6.4 Soxhletasi	21
2.6.5 Infus	21
2.7 Tinjauan tentang Standarisasi	21
2.7.1 Definisi Standarisasi	21
2.7.2 Parameter Standarisasi Ekstrak	22
2.8 Tinjauan tentang Fraksinasi	24
2.9 Tinjauan tentang Kromatografi	25
2.10 Tinjauan tentang Uji Aktifitas Antioksidan	28
2.10.1 Metode DPPH	28
2.10.2 Uji In Vitro Antioksidan	28

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1	Bahan	30
3.1.1	Bahan Tanaman	30
3.1.2	Bahan Kimia	30
3.2	Alat	30
3.3	Rancangan Metode Penelitian	31
3.3.1	Variabel Penelitian	31
3.4	Rancangan Penelitian	31
3.5	Tahapan Penelitian	32
3.5.1	Cara Penyiapan Sampel Simplisia	32
3.5.2	Penetapan Standarisasi Simplisia	33
3.5.3	Ekstraksi	36
3.5.4	Penetapan Standarisasi Ekstrak	36
3.5.5	Fraksinasi	37
3.5.6	Penentuan Profil KLT	38
3.5.7	Identifikasi Senyawa dengan Penampak Bercak	39
3.5.8	Tahap Penentuan Nilai IC_{50} Sampel dan Pembanding	39
3.5.9	Skema Kerja Penelitian	41

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Hasil Pemeriksaan Kembang Bulan	44
4.2	Hasil Penetapan Standarisasi Simplisia	49
4.3	Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Kembang Bulan	52
4.4	Hasil Penetapan Standarisasi Ekstrak	53

	Halaman
4.5 Hasil Fraksinasi Ekstrak	53
4.6 Hasil Pelaksanaan KLT	54
4.7 Hasil Penentuan Uji In Vitro Antioksidan	57
4.8 Pembahasan	63
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	67
5.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1	Tingkat Kekuatan Antioksidan 29
3.1	Jenis – jenis Eluen yang digunakan 38
3.2	Jenis – jenis Penampak Bercak yang digunakan 39
4.1	Hasil Pemeriksaan Identitas Serbuk Simplisia Kembang Bulan 45
4.2	Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Serbuk Simplisia Kembang Bulan 46
4.3	Hasil Pemeriksaan Organoleptis Simplisia 48
4.4	Hasil Pemeriksaan Kadar Sari Larut Etanol, Kadar Sari Larut Air, Kadar Air, Kadar Abu Total dan Kadar Abu Tidak Larut Asam 49
4.5	Hasil Skrining Fitokimia 51
4.6	Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Kembang Bulan 52
4.7	Hasil Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Kembang Bulan 52
4.8	Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak Etanol Kembang Bulan 52
4.9	Hasil Pengamatan Warna Fraksi 53
4.10	Hasil Rendemen Fraksi 53
4.11	Jenis Fase Gerak yang digunakan untuk KLT 54
4.12	Hasil Perhitungan Harga Rf 56
4.13	Hasil Pentuan IC ₅₀ berbagai Konsentrasi Vitamin C 57
4.14	Hasil Pentuan IC ₅₀ berbagai Konsentrasi Rutin 58
4.15	Hasil Penentuan IC ₅₀ berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol

	Halaman
Kembang Bulan	59
4.16 Hasil Penentuan IC ₅₀ berbagai Konsentrasi Fraksi N-Heksan	60
4.17 Hasil Penentuan IC ₅₀ berbagai Konsentrasi Fraksi Etil Asetat	61
4.18 Hasil Penentuan IC ₅₀ berbagai Konsentrasi Fraksi Air	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Kembang Bulan (<i>Tithonia diversifolia</i>)	13
2.2 Gambar Mikroskopik Daun Kembang Bulan secara Melintang	14
2.3 Gambar Mikroskopik Serbuk Simplisia Daun Kembang Bulan	15
2.4 Struktur Dasar Flavonoid	15
2.5 Struktur Dasar Polifenol	17
2.6 Struktur Dasar Rutin	18
2.7 Struktur Dasar Vitamin C	18
2.8 Reaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan Senyawa Antioksidan	28
2.9 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Larutan Uji dengan % Peredaman	29
3.1 <i>Microplate</i> yang Berisi Larutan (sampel, pembanding dan DPPH)	40
3.2 Skema Kerja Pembuatan Ekstraksi Hasil Soxhletasi dan Fraksi Kembang Bulan.....	41
3.3 Skema Kerja Penentuan Profil Kromatogram	42
3.4 Skema Kerja Penentuan Panjang Maksimum	42
3.5 Skema Kerja Penentuan Nilai IC ₅₀ dengan Metode DPPH	43
4.1 Serbuk Simplisia Kembang Bulan (<i>Tithonia diversifolia</i>)	44

	Halaman
4.2 Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Kembang Bulan	49
4.3 Hasil Pengamatan KLT Menggunakan Fasae Gerak BAW (3: 1: 1, v/v).....	53
4.4 Grafik Hasil Penentuan IC ₅₀ Berbagai Konsentrasi Vitamin C	56
4.5 Grafik Hasil Penentuan IC ₅₀ Berbagai Konsentrasi Rutin	57
4.6 Grafik Hasil Penentuan IC ₅₀ Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol	58
4.7 Grafik Hasil Penentuan IC ₅₀ Berbagai Konsentrasi Fraksi N-Heksan	59
4.8 Grafik Hasil Penentuan IC ₅₀ Berbagai Konsentrasi Fraksi Etil Asetat	60
4.9 Grafik Hasil Penentuan IC ₅₀ Berbagai Konsentrasi Fraksi Air	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Surat Pengantar Pengiriman Serbuk Daun Paitan / Tanaman	
Kembang Bulan	74
B. Perhitungan Kadar Air Simplisia	75
C. Perhitungan Kadar Abu Total Simplisia	76
D. Perhitungan Kadar Abu Tidak Larut Asam	77
E. Perhitungan Kadar Sari Larut Etanol Simplisia	78
F. Perhitungan Kadar Sari Larut Air Simplisia	79
G. Perhitungan Rendemen Ekstrak	80
H. Perhitungan Kadar Air Ekstrak	81
I. Foto Orientasi Fase Gerak KLT	82
J. Hasil Perhitungan Persen Aktivitas Antioksidan Berbagai	
Konsentrasi Ekstrak	88
K. Hasil Perhitungan Persen Aktivitas Antioksidan Berbagai	
Konsentrasi Fraksi N-Heksan	89
L. Hasil Perhitungan Persen Aktivitas Antioksidan Berbagai	
Konsentrasi Fraksi Etil Asetat	90
M. Hasil Perhitungan Persen Aktivitas Antioksidan Berbagai	
Konsentrasi Fraksi Air	91
N. Hasil Perhitungan Persen Aktivitas Antioksidan Berbagai	
Konsentrasi Rutin	92
O. Hasil Perhitungan Persen Aktivitas Antioksidan Berbagai	
Konsentrasi Vitamin C	93
P. Tabel Korelasi R	94
Q. Tabel % KV	95