

OPTIMASI PELARUT EKSTRAKSI DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.) TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN*

SOLVENT OPTIMIZATION OF RAMBUTAN LEAF EXTRACT (*Nephelium lappaceum* L.) AGAINST TOTAL FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY by *SIMPLEX LATTICE DESIGN* METHOD

SKRIPSI



Oleh :

TARASIA GANDES BELANI

4171059

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL

SURAKARTA

2021

OPTIMASI PELARUT EKSTRAKSI DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.) TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN*

SOLVENT OPTIMIZATION OF RAMBUTAN LEAF EXTRACT (*Nephelium lappaceum* L.) AGAINST TOTAL FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY by *SIMPLEX LATTICE DESIGN* METHOD

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional di Surakarta

Oleh:

TARASIA GANDES BELANI

4171059

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA**

2021

SKRIPSI

OPTIMASI EKSTRAKSI DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DENGAN METODE *SIMPLEX LATTICE DESIGN*

SOLVENT OPTIMAZATION OF RAMBUTAN LEAF EXTRACT
(*Nephelium lappaceum* L.) AGAINTS TOTAL FLAVONOID CONTENT
AND ANTIOXIDANT ACTIVITY BY *SIMPLEX LATTICE DESIGN*
METHOD

Oleh:

TARASIA GANDES BELANI

4171059

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 09 September 2021

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

apt. Susilowati, S.Farm., M.Sc

apt. Dwi Saryanti, S.Farm., M.Sc

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc

Tim Penguji

- | | |
|---|-----------------|
| 1. Prasinta Nita D, S.Si., M.Pharm.Sci. | Ketua Penguji |
| 2. apt Dian Puspitasari, S.Farm., M.Sc. | Anggota Penguji |
| 3. apt. Susilowati, S.Farm., M.Sc. | Anggota Penguji |
| 4. apt. Dwi Saryanti, S.Farm., M.Sc. | Anggota Penguji |

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia
yang memberi kekuatan kepadaku”
Filipi 4:13*

Karya ini saya persembahkan kepada Tuhan Yesus Kristus sumber kedamaian

Pdt. R Tyas Budi Legowo, Elisabeth Diana Yuliasuti dan Raditya Anggiya

Ahimsa tercinta yang telah mendoakan, memberi dukungan secara moril dan

materil

Seluruh almamater STIKES Nasional

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 18 Agustus 2021

Peneliti



(Tarasia Gandes Belani)

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Optimasi Pelarut Ekstraksi Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode *Simplex Lattice Design*” sebagai salah satu syarat menyanggah gelas Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak.

Untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M. Sc selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
2. Apt. Susilowati, S. Farm., M. Sc selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat serta bantuan dalam penyelesaian skripsi.
3. Apt. Dwi Saryanti, S. Farm., M. Sc selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan motivasi, bimbingan, pengarahan, nasehat serta bantuan dalam penyelesaian skripsi.
4. Prashinta Nita D,S. Si., M. Pharm.Sci selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
5. Apt. Dian Puspitasari selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
6. Bapak, mama dan adik yang selalu mendoakan, memberikan nasehat dan memberikan semangat sehingga terselesaikannya skripsi ini.

7. Sahabat-sahabatku Dilla, Indah, Irna, Isnaini, Laela Sylvi, Liyona, Mahanani, Noor Anisa, Oendita, Rachel, Resmaya, Septiana yang selalu memberikan semangat dan membantu selama proses pengerjaan skripsi
8. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2017 yang memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian.
9. Staf dan Karyawan Program Studi-S1 Farmasi STIKES Nasional, bagian Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintesis Obat dan bagian Kimia Instrumental STIKES Nasional.
10. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 18 Agustus 2021

Penulis

Tarasia Gandes Belani

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN.....	vi
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
INTISARI	xvii
<i>ABSTRACT</i>	xviii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Daun Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.).....	7
1. Deskripsi Tanaman Rambutan	7

2. Toksonomi Tanaman Rambutan	8
3. Morfologi Tanaman Rambutan	8
4. Kandungan Kimia Tanaman Rambutan	9
5. Kegunaan Tanaman Rambutan	10
B. Radikal Bebas.....	10
C. Antioksidan	11
D. Simplisia.....	12
1. Bahan Baku Simplisia	13
2. Proses Pembuatan Simplisia	13
E. Ekstraksi	14
F. Maserasi	15
G. Senyawa Flavonoid	16
H. Optimasi Pelarut	19
I. Metode Penetapan Kadar Flavonoid	20
J. Metode <i>ABTS</i>	21
K. <i>Simplex Lactice Design</i>	22
L. Landasan Teori.....	22
M. Hipotesis.....	23
N. Kerangka Konsep Penelitian	24
BAB III. METODE PENELITIAN	25
A. Desain Penelitian.....	25
B. Lokaasi dan Waktu Penelitian.....	25
C. Alat dan Bahan	25
D. Variabel Penelitian	26
E. Definisi Operasional.....	26
F. Jalannya Penelitian.....	28
G. Analisis Data	40
H. Alur Penelitian	42
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	43

A. Determinasi Tanaman Rambutan	43
B. Persiapan Sampel Daun Rambutan	43
C. Penetapan Susut Pengeringan	44
D. Pembuatan Ekstrak Daun Rambutan	45
E. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Rambutan	48
F. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Rambutan.....	52
G. Penetapan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan.....	58
H. Hubungan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan.....	66
I. Penentuan Formula Optimum dan Verifikasi Formula Optimum.....	67
BAB V. KESIMPULAN	70
A. Kesimpulan	70
B. Saran.....	70
DAFTAR PUSTAKA	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.).....	5
Gambar 2. Struktur Flavonoid	16
Gambar 3. Struktur Aglikon Flavonoid	17
Gambar 4. Penangkapan Spesies Oksigen Reaktif (ROS).....	18
Gambar 5. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin dengan $AlCl_3$	20
Gambar 6. Struktur <i>ABTS</i>	21
Gambar 7. Kerangka Konsep Penelitian	23
Gambar 8. Alur Penelitian.....	38
Gambar 9. Mekanisme Reaksi Flavonoid dengan serbuk Mg dan larutan HCl	50
Gambar 10. Mekanisme Reaksi Fenol dengan Reagen $FeCl_3$	51
Gambar 11. Mekanisme Reaksi Alkaloid dengan pereaksi Dragendroff.....	51
Gambar 12. Mekanisme Reaksi Saponin dengan Air	52
Gambar 13. Reaksi Pembentukan Kompleks Flavonoid dengan $AlCl_3$	53
Gambar 14. Spektra Kompleks Kuersetin $AlCl_3$ pada rentang panjang gelombang 375-450 nm	54
Gambar 15. Grafik kurva baku kuersetin.....	56
Gambar 16. Grafik hubungan etanol dan air pada kadar flavonoid total ekstrak daun rambutan.....	57
Gambar 17. Reaksi Pembentukan Radikal <i>ABTS</i> dan reaksi pemerangkapan Radikal bebas oleh antioksidan.....	59
Gambar 18. Spektra radikal <i>ABTS</i>	61

Gambar 19. Grafik Kurva Baku Kuersetin	62
Gambar 20. Grafik Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi ekstrak daun rambutan.....	64
Gambar 21. Grafik hubungan etanol dan air pada aktivitas antioksdian ekstrak daun rambutan.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Formula Optimasi Pelarut	27
Tabel 2. Penggolongan Tingkat Antioksidan	36
Tabel 3. Susut Pengeringan Daun Rambutan	44
Tabel 4. Organoleptis Ekstrak Daun Rambutan	46
Tabel 5. Rendemen Ekstrak Daun Rambutan	47
Tabel 6. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Rambutan	49
Tabel 7. Tabel Hasil <i>Operating Time</i> Kompleks Kuersetin $AlCl_3$	55
Tabel 8. Tabel Hasil <i>Operating Time</i> Radikal ABTS	60
Tabel 9. Hasil Pengukuran Absorbansi, % Inhibisi dan nilai IC_{50} Kuersetin	62
Tabel 10. Tabel Hasil Kadar Flavonoid Total dan Nilai IC_{50} Ekstrak Daun Rambutan	67
Tabel 11. Penetapan Goal (Target). Limit over, Limit upper dan Importance dari respon pelarut ekstrak daun rambutan	68
Tabel 12. Perbandingan antara hasil prediksi formula optimum dan hasil Percobaan replikasi 3x	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi	79
Lampiran 2. Hasil persiapan sampel daun rambutan	83
Lampiran 3. Maserasi dan Remaserasi Ekstrak Daun Rambutan & Formula Optimum	81
Lampiran 4. Proses pengentalan ekstrak.....	82
Lampiran 5. Hasil uji skrining fitokimia	83
Lampiran 6. Data <i>Simplex Lattice Design</i>	85
Lampiran 7. Data Uji Statistik Verifikasi Formula Optimum.....	86
Lampiran 8. Data Korelasi Penetapan Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan	87
Lampiran 9. Perhitungan Randemen Ekstrak Formula Pelarut 1 – 8.....	88
Lampiran 10. Perhitungan Randemen Ekstrak Formula Pelarut Optimal	90
Lampiran 11. Perhitungan Bahan.....	91
Lampiran 12. Bahan Kadar Flavonoid Total.....	94
Lampiran 13. Bahan Aktivitas Antioksidan.....	96
Lampiran 14. Perhitungan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Formula Pelarut 1-8	98
Lampiran 15. Perhitungan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Formula Pelarut Optimal	96
Lampiran 16. Kurva Baku dan Perhitungan IC ₅₀ Kuersetin	109
Lampiran 17. Kurva dan Perhitungan Ekstrak Formula Pelarut 1-8.....	111
Lampiran 18. Kurva dan Perhitungan Ekstrak Formula Pelarut Optimal.....	121

DAFTAR SINGKATAN

IC ₅₀	<i>Inhibition Concentratuin 50%</i>
ABTS	<i>2,2'-azino-bis-(3 etilbenzotiazolin)-6 sulfonate acid</i>
QE	<i>Quercetin equivalen</i>

INTISARI

Pemilihan kombinasi pelarut yang tepat dapat memengaruhi senyawa yang tersari. Daun rambutan memiliki kandungan senyawa flavonoid yang bermanfaat sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi pelarut yang optimal dalam menyari flavonoid sehingga didapatkan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan serta pengaruh komposisi pelarut optimal dengan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.).

Daun rambutan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan 8 formula pelarut selanjutnya diukur kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri dan aktivitas antioksidan menggunakan metode *ABTS*. Penentuan formula optimal menggunakan metode *simplex lattice design*. Uji verifikasi dilakukan menggunakan *SPPS One Sample T-Test*. Analisis pengaruh komposisi pelarut optimal dengan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan menggunakan korelasi pearson.

Hasil identifikasi senyawa menunjukkan ekstrak daun rambutan mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid dan saponin. Didapatkan komposisi pelarut air 0% dan etanol 100% pada formula optimal. Hasil penetapan kadar flavonoid total dan aktivitas antiosidan dari formula optimal berturut-turut sebesar $12,28 \pm 0,062$ % QE, $12,25 \pm 0,116$ % QE, $12,20 \pm 0,025$ % QE dan $7,14 \pm 0,047$ ppm, $7,07 \pm 0,05$ ppm, $7,17 \pm 0,02$ ppm dengan hasil statistik *one sample t-test* $p > 0,05$ dan koefisien korelasi $-0,947$.

Kata kunci : Kombinasi pelarut, *Nephelium lappaceum* L., Flavonoid, Antioksidan, Optimasi.

ABSTRACT

The selection of the right combination of solvents can affect the abstracted compounds. Rambutan leaves contain flavonoid compounds that are useful as antioxidants. This study aims to know the optimal solvent combination in flavonoids so that total flavonoid levels and antioxidant activity are obtained and the influence of optimal solvent composition with total flavonoid levels and antioxidant activity of rambutan leaf extract (*Nephelium lappaceum* L.).

Rambutan leaves extracted by maceration method using 8 solvent formulas further measured total flavonoid levels using the method of colorimetry and antioxidant activity using the ABTS method. Determination of optimal formula using the simplex lattice design method. The verification test is conducted using the SPSS One Sample T-Test. Analysis of the influence of optimal solvent composition with total flavonoid levels and antioxidant activity using pearson correlation.

The results of the identification of the compound showed rambutan leaf extract contains flavonoid compounds, phenols, alkaloids and saponins. Obtained the composition of water solvent 0% and ethanol 100% in the optimal formula. The results of determining the total flavonoid levels and antiosidant activity of the optimal formula are $12.28 \pm 0.062\%$ QE, $12.25 \pm 0.116 \%$ QE, $12.20 \pm 0.025 \%$ QE and 7.14 ± 0.047 ppm, 7.07 ± 0.05 ppm, 7.17 ± 0.02 ppm with statistical results of one sample $t > 0.05$ and correlation coefficient -0.947 .

Keywords: Combination of solvents, *Nephelium lappaceum* L., Flavonoids, Antioxidants, Optimization.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Pada era globalisasi ini perubahan pola hidup masyarakat berdampak negatif bagi kesehatan yang dapat memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif merupakan salah satu kategori penyakit tidak menular, mempunyai durasi yang panjang dan umumnya berkembang secara lambat. Penyakit degeneratif utama menurut *World Health Organization* (WHO) yaitu penyakit kardiovaskular (penyakit jantung koroner dan stroke), kanker, penyakit pernapasan kronis (asma dan penyakit paru obstruksi kronis), dan diabetes (Erwianto, 2013).

Penyakit degeneratif berhubungan dengan radikal bebas (Hunter dan Reddy, 2013). Radikal bebas merupakan molekul, atom atau gugus yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya sehingga sangat reaktif dan radikal seperti radikal bebas turunan oksigen reaktif atau *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal bebas yang keberadaannya paling banyak dalam sistem biologis tubuh adalah ROS dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) (Parwata, 2016). Radikal bebas yang berikatan secara kovalen dengan enzim atau reseptor dapat menyebabkan kerusakan pada senyawa yang diserang dan membentuk senyawa radikal bebas yang baru. Radikal bebas akan mengadakan reaksi berantai, apabila terjadi di dalam tubuh akan menimbulkan kerusakan yang berlanjut dan terus-menerus. Jumlah radikal bebas dapat meningkat akibat faktor stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan. Radikal bebas dapat ditangkal

atau diredam dengan adanya antioksidan (Aji, 2014).

Senyawa antioksidan alami pada umumnya dapat diperoleh dengan cara mengonsumsi buah dan sayuran yang mengandung vitamin A, C, E, asam folat, antosianin, senyawa fenolik dan flavonoid (Parwarta, 2016). Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki aktivitas farmakologi salah satunya sebagai antioksidan. Hal ini disebabkan karena gugus OH dan ikatan rangkap dua (C=C) (Fessenden dan Fessenden, 1986; Muraay dkk., 2009).

Senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami salah satunya berasal dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Daun rambutan mengandung senyawa metabolit sekunder fenol, flavonoid dan tanin (Yuda dkk., 2015). Hasil uji fitokimia terhadap kandungan senyawa kimia dalam daun rambutan telah terbukti bahwa ekstrak etanol mengandung alkaloid, tannin, flavonoid, dan saponin (Ulfah, 2016).

Kandungan flavonoid total dan fenolik total dalam ekstrak etanol 70% daun rambutan telah diteliti sebesar $16,7 \pm 0,01$ mg RUE/g dan $19,6 \pm 0,04$ mg GAE/g (Chigurupati dkk., 2019). Ekstrak etanol 70% dan ekstrak air dari kulit dan biji rambutan memiliki kandungan flavonoid total $63,36 \pm 7,17$ hingga $163 \pm 1,88$ mg QE/g (Yunusa dkk., 2018). Aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% daun rambutan telah dibuktikan dari beberapa penelitian yang ditandai dengan nilai IC_{50} sebesar 25,47 ppm dengan menggunakan metode DPPH (Pangaribuan dkk., 2016) dan $1,295 \pm 0,05$ μ g/ml dengan menggunakan metode ABTS (Chigurupati dkk., 2019). Dalam penelitian ini, kadar flavonoid total dinyatakan dalam *qercetin*

equivalent (QE) dimana flavonoid-flavonoid yang memiliki struktur atau atom inti seperti kuersetin merupakan senyawa yang bersifat semi polar. Flavonoid merupakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan (Parwata, 2016). Hasil penelitian ini digunakan sebagai dasar untuk melakukan optimasi pelarut ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) agar mendapatkan ekstrak yang baik dilakukan sesuai dengan prinsip ekstraksi yaitu *like dissolve like* perolehan senyawa metabolit sekunder didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut yang digunakan (Harbone, 1987).

Berdasarkan peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan nomor 32 tahun 2019 tentang persyaratan keamanan dan mutu obat tradisional, pelarut air dan etanol dapat digunakan untuk ekstraksi dalam pengembangan obat tradisional (BPOM, 2019) karena memiliki sifat non toksisitas dalam pengaplikasiannya (Yunusa dkk., 2018). Air sebagai pelarut polar umumnya akan melarutkan senyawa golongan gula, asam amino, protein, poliglikosida, tanin, garam alkaloid dan polifenol (Paresmeswari dan Widjanarko, 2014). Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida (Markham, 1988). Etanol dengan polaritas yang lebih rendah daripada air, dapat melarutkan senyawa alkaloid, diglikosida, fenolik, flavonoid dan sedikit minyak atsiri (Prameswari dan Widjanarko, 2014).

Campuran air-etanol diharapkan dapat menelusur keberadaan senyawa aktif yang berpotensi sebagai obat tradisional berdasarkan sifat kelarutannya pada berbagai penyari dengan perbedaan polaritas. Air dan etanol merupakan pelarut

universal karena dapat melarutkan berbagai macam zat kimia, namun dalam penggunaan air sebagai pelarut tunggal dapat memicu pertumbuhan kapang dan kuman dengan cepat. Sedangkan etanol merupakan pelarut yang lebih efektif karena kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol (Saadah dan Nurhanaswati, 2015) sehingga dilakukan kombinasi campuran air dan etanol. Optimasi pelarut air dan etanol dilakukan agar diperoleh perbandingan formula pelarut optimum sehingga dapat dihasilkan ekstrak daun rambutan yang baik. Optimasi pelarut air dan etanol dilakukan menggunakan metode *Simplex Lattice Design* yang memiliki kelebihan metode optimasi dengan campuran yang paling sederhana, serta dapat digunakan untuk optimasi campuran antara bahan (Fauzan, 2019).

Optimasi pelarut ekstrak daun rambutan dalam pencarian literatur belum pernah dilakukan, maka berdasarkan uraian latar belakang masalah perlu dilakukan penelitian tentang optimasi pelarut ekstrak daun rambutan terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan. Kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri. Aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *ABTS (2,2'-Azinobis [3-ethylbenzoathiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt)* karena *ABTS* dapat larut dalam air maupun pelarut organik (Karadag dkk., 2009). Metode *ABTS* dikatakan lebih stabil karena dapat digunakan pada berbagai level pH, sampel bereaksi dengan cepat dengan *ABTS* mencapai kondisi stabil dalam 30 menit (Shalaby dan Shanab, 2013). Hal ini dapat memberikan informasi untuk penelitian selanjutnya tentang potensi flavonoid dan antioksidan ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) agar

dapat dikembangkan sebagai sediaan obat tradisional menggunakan formula pelarut yang optimal.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh perbandingan pelarut terhadap kadar flavonoid total dan nilai IC_{50} dalam optimasi pelarut ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)?
2. Berapakah komposisi formula pelarut yang paling optimal dalam ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan menggunakan metode *simplex lattice design* ?
3. Berapakah kadar senyawa flavonoid total dan nilai IC_{50} dari cairan penyari yang optimal dalam ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh perbandingan pelarut terhadap kadar flavonoid total dan nilai IC_{50} dalam optimasi ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)
2. Mengetahui komposisi formula pelarut yang paling optimal dalam ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan menggunakan metode *simplex lattice design*
3. Mengetahui kadar flavonoid total dan nilai IC_{50} dari optimasi cairan penyari yang optimal dalam ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk:

1. Menambah sumber data ilmiah untuk penelitian selanjutnya mengenai kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari hasil optimasi pelarut ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan menggunakan metode *simplex lattice design*.
2. Data yang didapatkan dapat digunakan untuk pengembangan obat tradisional.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan rancangan eksperimental dimana terdapat variabel bebas (air dan etanol) dengan tujuan untuk mendapatkan yang optimum dengan melihat melalui parameter kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan yaitu mencari komposisi pelarut (air dan etanol) yang optimum dalam formula pelarut ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan menggunakan metode *simplex lattice design* kemudian dilakukan uji verifikasi dengan menggunakan *one-sample t-test*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2021 di laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintesis Obat dan Kimia Instrumental STIKES Nasional.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), Neraca analitik (Acis BC 500), cawan porselin (Herma), bejana maserasi (Maxi), gelas beker (Pyrex), batang pengaduk (Herma), blender (Philips), pipet volume (Pyrex), waterbath, *moisture* balance, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-1240), kuvet (Herma), mikropipet (Pyrex), tabung reaksi (Herma), rak tabung reaksi (Mitra), labu ukur (Pyrex)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun rambutan yang diperoleh dari Desa Jurangjero, Karangnom Klaten, Etanol absolute p.a

(Medika), aquadest (Medika), ABTS (E. Merck), ABTS (E. Merck), Kuersetin (Sigma Alrich), $AlCl_3$ (E. Merck), Kalium asetat (Chemist), serbuk Mg, HCl, Dreagendroff.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbandingan air dan etanol absolute p.a sebagai pelarut ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dalam optimasi.
2. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari optimasi pelarut ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.).
3. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah pemilihan bahan yang digunakan, suhu pengeringan simplisia, suhu *rotary evaporator*, metode ekstraksi, metode penetapan kadar flavonoid total dan antioksidan daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

E. Definisi Operasional

Definisi operasional yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Daun rambutan yang digunakan merupakan jenis Rapih diperoleh dari Desa Jurangjero, Karangnom, Klaten dipanen dengan teknik *purposive*.
2. Kadar flavonoid total merupakan kadar flavonoid dalam sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (QE). Kadar flavonoid total didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus total flavonoid, dimana kadar flavonoid dalam sampel (sumbu x) dapat diketahui dengan

memasukkan absorbansi sampel ke dalam sumbu y pada persamaan regresi linier kuersetin.

3. *Inhibitor Concentration 50% (IC₅₀)* yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal ABTS sebanyak 50%. Nilai *IC₅₀* yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus persamaan regresi.
4. Optimasi pelarut terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan metode *simplex lattice design* dan diverifikasi menggunakan uji t.

F. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang akan digunakan dideterminasi terlebih dahulu di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Penyiapan Simplisia Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Daun rambutan yang berwarna hijau tua dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir hingga bersih kemudian ditiriskan. Daun rambutan yang sudah ditiriskan dipotong-potong kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40° C. Daun rambutan yang sudah kering dihancurkan dengan blander sampai terbentuk serbuk kemudian disaring menggunakan ayakan mesh 40 (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

3. Penetapan Susut Pengerinan

Penetapan susut pengerinan serbuk daun rambutan dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam *moisture balance* pada suhu 105°C sampai nilai susut pengerinan muncul pada alat dalam satuan persen (%) terhadap bobot awal (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

4. Ekstraksi Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Tabel 1. Perbandingan pelarut untuk optimasi ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Pelarut	Formula (%)							
	Run I	Run II	Run III	Run IV	Run V	Run VI	Run VII	Run VIII
Air	50	100	75	50	0	100	25	0
Etanol absolute p.a	50	0	25	50	100	0	75	100

Serbuk daun rambutan ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dimasukan kedalam 8 bejana yang berbeda. Masing-masing bejana diisi dengan pelarut sebanyak 750,0 ml sesuai dengan perbandingan pelarut pada tabel 1 dengan perbandingan 1:7,5 yaitu 1 bagian simplisia dimasukkan dalam 7,5 bagian cairan penyari didiamkan selama 5 hari dengan dilakukan pengadukan satu kali dalam sehari. Hasil maserat disaring dengan kain flanel. Residu masing-masing bejana direndam kembali dengan pelarut sebanyak 250,0 ml sesuai dengan perbandingan pelarut pada tabel 1 (Depkes RI, 1979). Filtrat disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*

dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Chigurupati dkk., 2019).

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot yang diperoleh}}{\text{bobot bahan awal}} \times 100\%$$

5. Skrining Fitokimia

a. Flavonoid

100,0 mg ekstrak kental ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 10 ml pelarut etanol 70% kemudian 1 ml ekstrak cair diuapkan hingga kering, ditambahkan 2-3 tetes etanol, kemudian ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan beberapa tetes HCl 5M. Warna merah hingga merah lembayung yang timbul menandakan adanya senyawa flavanon, flavonol, flavanonol dan dihidroflavonol (Hanani, 2015)

b. Fenol

100,0 mg ekstrak kental ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 10 ml pelarut etanol 70%. Larutan uji sebanyak 2 ml dan ditambahkan 5 tetes FeCl₃. Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin dan polifenol (Robinson, 1991).

c. Alkaloid

100,0 mg ekstrak kental ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 10 ml pelarut etanol 70%. Larutan uji sebanyak 2 ml diuapkan diatas cawan porselen hingga diperoleh residu. Residu dilarutkan dengan 5 ml

HCl 2N dan ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi dragendroff. Terbentuknya endapak jingga menunjukkan adanya alkaloid (Farnsworth, 1966).

d. Saponin

100,0 mg ekstrak kental ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 10 ml pelarut etanol 70%. Larutan uji sebanyak 10 ml dalam tabung reaksi dikocok secara vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Terbentuknya busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (Depkes RI, 1995).

6. Pengukuran Kadar Flavonoid Total

a. Pembutan reagen untuk penetapan kadar flavonoid total

1) Pembutan Larutan $AlCl_3$ 10%

Serbuk $AlCl_3$ sebanyak 1,0 gram ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam beker glass kemudia dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

2) Pembuatan Kalium Asetat 1 M

Kalium asetat ditimbang seksama sebanyak 0,9814 gram dimasukkan ke dalam beker glass kemudian dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna, dimasukkan labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan aquadest hingga batas tanda.

3) Pembuatan Larutan Blangko

Etanol 95% p.a 3 ml, aluminium klorida 10% sebanyak 0,2 ml, 0,2 ml kalium asetat 1M dimasukkan dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

4) Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Baku standar kuersetin ditimbang seksama sebanyak 100,0 mg dilarutkan dalam etanol p.a hingga volume 100,0 ml.

5) Pembuatan Larutan Baku Kerja Kuersetin 100 ppm

Larutan baku induk 1000 ppm diambil sebanyak 1,0 ml kemudian dicukupkan volumenya sampai 10,0 ml dengan etanol pa.

6) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku kerja kuersetin konsentrasi 100 ppm diambil sebanyak 0,1 ml ditambahkan dengan 1,5 ml etanol 95% p.a, 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,5 ml kalium asetat 1M dan 2,8 ml aquadest. Diukur serapan dengan spektrofotometri Uv-Vis pada rentang panjang gelombang 370-450 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tinggi merupakan panjang gelombang maksimum (Asmorowati dan Lindawati, 2019). Kemudian panjang gelombang maksimum yang didapatkan digunakan untuk menentukan *Operating Time* (OT).

7) Penentuan *Operating Time* (OT)

Larutan baku kerja kuersetin konsentrasi 100 ppm sebanyak 0,5 ml ditambahkan dengan 1,5 ml etanol 95% p.a, 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml

kalium asetat 1M dan 2,8 ml aquadest. Diukur pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan dengan interval waktu 2 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Diamati kurva hubungan antara absorbansi, waktu dan ditentukan *operating time* (Asmorowati dan Lindawati, 2019).

8) Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 1000 ppm dipipet sebanyak 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,6 ml dimasukkan kedalam labu ukur 5 ml dan ditambahkan etanol p.a tanda batas sehingga didapatkan deret konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm dan 120 ppm. Masing-masing konsentrasi dari larutan seri baku kuersetin dipipet 0,1 ml kemudian ditambahkan 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml kalium asetat 1M dan 2,8 ml aquadest kemudian didiamkan selama *operating time*. Absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum saat terjadi *operating time* (Asmorowati dan Lindawati, 2019).

b. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Masing-masing ekstrak ditimbang seksama sebanyak 100,0 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai volumenya 100,0 ml. Masing-masing larutan diambil sebanyak 0,5 ml kemudian ditambahkan dengan 0,1 ml AlCl_3 10% dan 0,1 ml kalium asetat 1 M dan 2,8 ml aquadest. Sampel didiamkan selama *operating time*. Absorbansi ditentukan dengan

menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Chang dkk., 2002).

Kadar flavonoid dihitung menggunakan persamaan regresi linear berdasarkan kurva baku hasil pembacaan spektrofotometer UV-Vis. Data absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear sebagai y dan konsentrasi larutan baku sebagai x.

Persamaan regresi linear dinyatakan dengan :

$$y = bx + a$$

Keterangan: y = absorbansi

x = konsentrasi (ppm)

b = slope

a = intersep

Hasil absorbansi dari pengukuran sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear. Absorbansi sampel dinyatakan sebagai Y, sehingga kadar flavonoid total yang diperoleh dinyatakan sebagai % yang setara kuersetin.

$$Kadar\ flavonoid\ total = \frac{konsentrasi\ (\frac{\mu g}{ml})}{Berat\ sampel} \times fp$$

c. Perhitungan KV (Koefisien Variasi)

Koefisien variasi digunakan untuk mengetahui kesesuaian analisis satu dengan hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampling acak secara berulang dari sampel homogennya. Koefisien variasi yang baik adalah kurang dari 2% (Harmita, 2004).

$$\% \text{ KV} = \frac{\text{Standar deviasi}}{\text{Rata-rata kadar sampel}} \times 100\%$$

7. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Reagen Untuk Pengukuran Aktivitas Antioksidan

1) Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Baku standar kuersetin ditimbang seksama sebanyak 100,0 mg dilarutkan dalam etanol p.a hingga volume 100 ml.

2) Pembuatan Larutan Baku Kerja Kuersetin 100 ppm

Larutan baku induk 1000 ppm diambil sebanyak 1 ml kemudian dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan etanol pa.

3) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan radikal *ABTS* dipipet sebanyak 1, ml dan dicukupkan dengan PBS pH dalam labu ukur 25 ml kemudian diukur serapan dengan spektrofotometri Uv-Vis pada rentang panjang gelombang 700-750 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tinggi merupakan panjang gelombang maksimum (Chigurupati, 2019). Kemudian panjang gelombang maksimum yang didapatkan digunakan untuk menentukan *Operating Time* (OT).

4) Penentuan *Operating Time*

Larutan baku kerja kuersetin 6 ppm diambil sebanyak 0,5 ml ditambahkan dengan 0,5 ml larutan radikal *ABTS* diukur serapan pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan dengan interval waktu 2 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Diamati kurva

hubungan antara absorbansi, waktu dan ditentukan *operating time* (Chigurupati., 2019).

5) Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm dipipet sebanyak 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, 1,0 ml dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol p.a tanda batas sehingga didapatkan deret konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi dari larutan seri baku kuersetin dipipet 0,5 ml kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan radikal *ABTS* diinkubasi selama *operating time* dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Chigurupati dkk., 2019).

6) Larutan *ABTS* 7 mM

ABTS ditimbang seksama sebanyak 18 mg dilarutkan ke dalam aquadest dalam labu ukur 5 ml.

7) Larutan $K_2S_2O_8$ 2,45 mM

Kalium persulfat ditimbang seksama sebanyak 13 mg dilarutkan ke dalam aquadest sampai 20 ml.

8) Larutan PBS pH 7,4

Natrium klorida ditimbang seksama sebanyak 0,8 gram, kalium klorida sebanyak 0,02 gram, natrium hidrogen fosfat sebanyak 0,142 gram, kalium dihidrogen fosfat 0,024 gram dilarutkan dalam aquades sampai 100,0 ml.

9) Larutan Radikal *ABTS*

Sebanyak 5,0 ml larutan *ABTS* diambahkan 5 ml larutan kalium persulfat, diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 22-24°C selama 12-16 jam sebelum digunakan, dihasilkan larutan *ABTS* dengan warna biru gelap. Larutan tersebut digunakan sebagai larutan kontrol.

10) Larutan Blanko

Sebanyak 5 ml kalium persulfat ditambahkan dengan 5 ml aquadest, diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 22-24°C selama 12-16 jam (Chigurupati dkk., 2019).

b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Ekstrak daun rambutan masing-masing ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 50,0 ml sebagai larutan sampel baku induk 1000 ppm. Larutan sampel baku kerja 100 ppm dibuat dari larutan sampel induk yang dipipet 1 ml dan diencerkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 10,0 ml. Larutan sampel kurva baku dibuat dari larutan baku kerja 100 ppm dipipet sebanyak 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, 1,0 ml dimasukkan kedalam labu ukur 5 ml dan ditambahkan etanol p.a tanda batas sehingga didapatkan deret konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi dari sampel dipipet 0,5 ml kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan radikal *ABTS* diinkubasi selama *operating time* dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum saat terjadi *operating time* (Chigurupati dkk., 2019).

Hasil uji penangkal radikal bebas metode *ABTS* pada ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dipaparkan sebagai hasil penelitian, sehingga didapatkan jumlah persen penangkal antioksidan (Cholisoh dan Utami, 2008). Pengukuran presentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\%Inhibisi = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

Keterangan:

Absorbansi kontrol = absorbansi larutan radikal *ABTS*

Absorbansi sampel = absorbansi larutan sampel ditambah radikal bebas *ABTS*

Perhitungan nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi larutan uji yang dapat menangkal radikal bebas sebesar 50 % melalui persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % inhibisi (y). Nilai IC_{50} diperoleh dengan mensubstitusikan Y sebagai % inhibisi sebesar 50% dan x sebagai IC_{50} (Molyneux, 2004).

$$Y = Bx + A$$

$$50 = Bx + A$$

$$X = \frac{50 - A}{B} = IC_{50}$$

d. Perhitungan KV (Koefisien Variasi)

Koefisien variasi digunakan untuk mengetahui kesesuaian analisis satu dengan hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampling acak secara berulang dari sampel homogennya. Koefisien variasi yang baik adalah kurang dari 2% (Harmita, 2004).

$$\% \text{ KV} = \frac{\text{Standar deviasi}}{\text{Rata-rata kadar sampel}} \times 100\%$$

8. Penentuan Formula Pelarut Optimum

Optimasi pelarut air dan etanol absolute p.a dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Design Expert 12* dengan parameter respon kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan. Semua formula pelarut yang diperoleh diformulasi berdasarkan urutan run 1-8 lalu diuji kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidannya, diolah menggunakan *Design Expert* dengan metode *Simplex Lattice Design* menggunakan 2 faktor. Faktor yang diteliti yaitu air sebagai faktor A sebesar 0-100% dan etanol absolute p.a sebagai faktor B sebesar 0-100%. Formula optimal ditentukan dari nilai yang optimal (*desirability*) yaitu mendekati 1 untuk melihat formula optimal.

9. Verifikasi Formula Optimum

Verifikasi dilakukan dengan cara pengukuran kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak formula pelarut optimal sebanyak 3 kali replikasi dan dibandingkan dengan nilai prediksi dari *software Design Expert* versi 12. Analisis statistik untuk verifikasi menggunakan program SPSS *one sample t-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui apakah prediksi yang dihasilkan oleh *software Design Expert* versi 12 menghasilkan data yang berbeda signifikan atau tidak terhadap ekstrak hasil percobaan (Riyanto, 2011).

G. Analisis Data

1. Kategori Antioksidan

Tabel 2. Penggolongan Tingkat Antioksidan (Mardawati dkk., 2008).

No	Nilai IC_{50} (ppm)	Tingkat Aktivitas
1.	151 – 200	Lemah
2.	100 – 150	Sedang
3.	50 – 100	Kuat
4.	< 50	Sangat Kuat

2. Koefisien Variasi

Koefisien variasi yang baik adalah kurang dari 2%

3. Uji Korelasi Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan

Parameter yang digunakan meliputi kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan. Analisis statistik yang digunakan untuk uji korelasi pearson menggunakan program SPSS untuk mengetahui hubungan antara variabel yang berjenis numerik, mengetahui derajat/keeratan hubungan berdasarkan nilai koefisien korelasinya (r) (Riyanto, 2011).

4. Penentuan Formula Pelarut Optimum

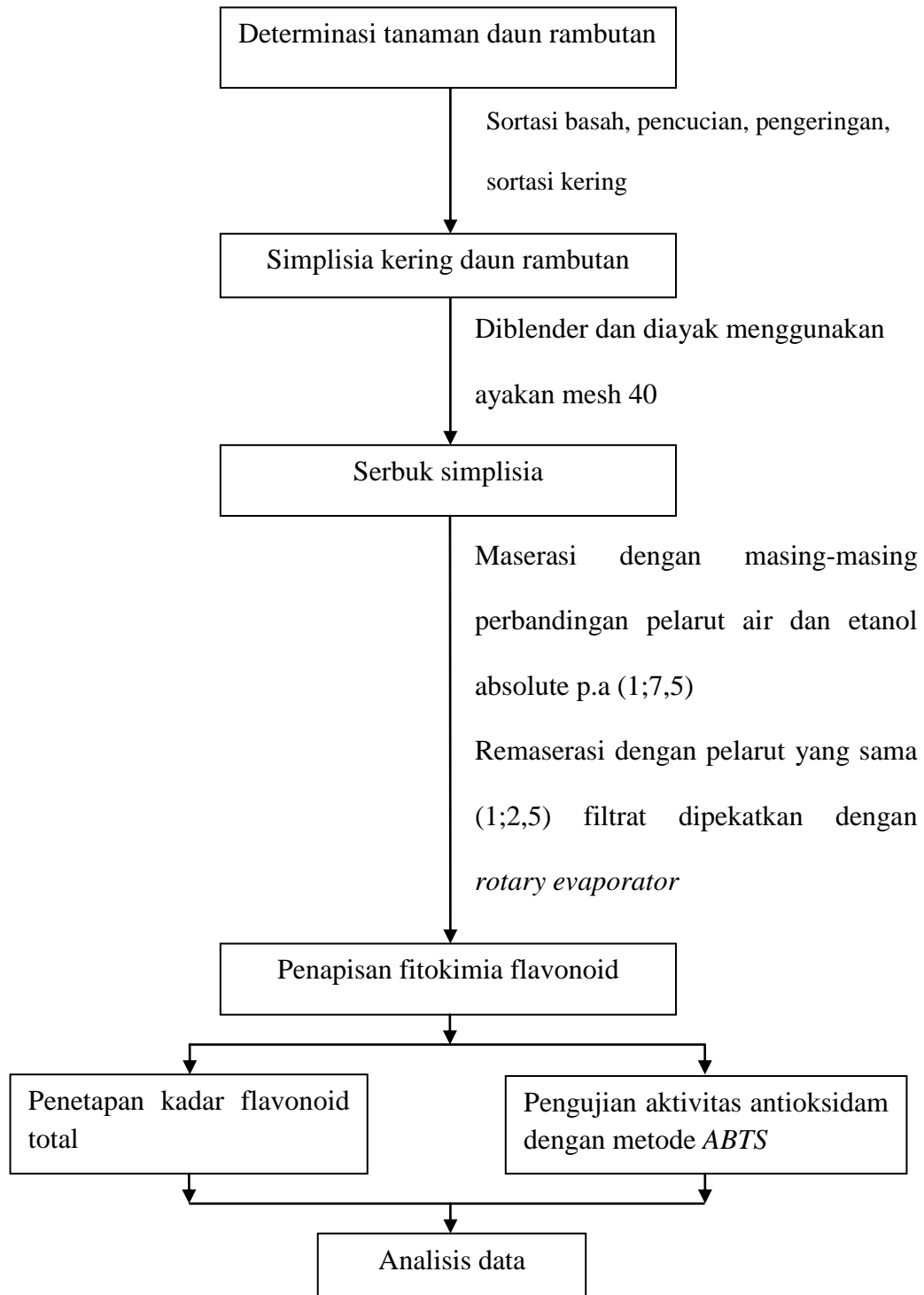
Dalam penentuan komposisi formula pelarut dilakukan menggunakan metode *Simplex Lattice Design* dengan aplikasi program *Design Expert versi 12*. Didapatkan hasil formula pelarut yang optimum jika nilai desirability mendekati 1, dimana semakin tinggi nilai desirability

(mendekati 1) berarti formula optimum yang dihasilkan semakin mencapai respon yang dikehendaki (Prastianto, 2016).

5. Uji Verifikasi

Parameter yang digunakan meliputi kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan. Analisis statistik yang digunakan untuk verifikasi menggunakan program SPSS *one sample t-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui apakah prediksi yang dihasilkan oleh *software Design Expert* versi 12 menghasilkan data yang berbeda signifikan atau tidak terhadap ekstrak hasil percobaan (Riyanto, 2011).

H. Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Peningkatan konsentrasi etanol dapat meningkatkan kadar flavonid total dan aktivitas antioksidan.
2. Komposisi pelarut air 0% dan etanol 100% menghasilkan komposisi formula pelarut optimum dalam ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L).
3. Kadar flavonoid total dan nilai IC_{50} dari ekstrak daun rambutan formula pelarut optimum masing-masing sebesar $12,28 \pm 0,062$ % QE, $12,25 \pm 0,116$ % QE, $12,20 \pm 0,025$ % QE dan $7,14 \pm 0,047$ ppm, $7,07 \pm 0,05$ ppm, $7,17 \pm 0,02$ ppm.

B. Saran

1. Dilakukan standarisasi ekstrak daun rambutan
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar kadungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun rambutan yang dapat bertanggung jawab sebagai antioksidan
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak daun rambutan dalam pengembangan sediaan obat berbentuk cream tabir surya dengan basis bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiningsih., Wildan, A., dan Mindaningsih. 2010. Optimasi Cairan Penyari Pada Pembuatan Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Secara Maserasi Terhadap Kadar Frnolik dan Flavonoid Total. *Momentum*. 6 (2), 36-4
- Agoes, G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, ITB Press, Bandung.
- Aji, R.M., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Daging Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) menggunakan metode DPPH, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Anggraini, N., 2018, Efektivitas Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Sebagai Larvasida Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Skripsi Ilmu Biologi*, Universitas Islam Negeri Raden Intan, Lampung.
- Anonim, 2015, *Pedoman Budidaya, Panen dan Pasca Panen Tanaman Obat*, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Balitbangkes Kemenkes RI, Karanganyar.
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Asmanizar, Iis Aisyah, Edisi keempat. 255-271, 607-608,700, UI Press, Jakarta.
- Arifin, B., dan Sanusi, I., 2018, Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah*, 6 (1), 21-29
- Asmorowati, H., dan Lindawati, N.Y., 2019, Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15 (2).
- Astarina, N.W.G., Astuti, K.W., dan Warditiani, N.K., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Bali.
- Bolton, S., 1997, *Pharmacognosy: Phytochemistry Medicinal Plants*, 2nd Ed, 703-704, Lavoister Publishing, New York.
- Bruneto, J., 1999, *Phytochemistry Medicinal Plants*, Lavoisier Phublishing, New York.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., dan Chern., J.C., 2002, Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (3), 178-182.

- Chigurupati, S., Vijayabalan, S., Selvarajana, K.K., Hashish, N.E, Mani, V., Ahmed, E.S., dan Das, S., 2019, Identification of *Nephelium lappaceum* leaves phenolic and flavonoid component with radical scavenging, antidiabetic and antibacterial potential, *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 8 (2), 360-365.
- Departemen Kesehatan RI, 1979, Farmakope Herbal Indonesia Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2008, Farmakope Herbal Indonesia Edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2010, *Farmakope Herbal Indonesia*, Direktorat Jendral Pengawasan Obatdan Makanan, Jakarta.
- Dwinatari, I.K., dan Murti, Y.B., 2015, Pengaruh waktu Pemanenan dan Tingkat Maturasi Daun terhadap Kadar Voteksikarpin dalam Daun Legundi (*Vitex trifolia L.*), *Traditional medicine journal*.
- Desmiyanti, Y., Ratnawati J., dan Andini, P., 2009, Penentuan Jumlah Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*) dengan Metode Refluks, *Panca sakti Science Education Journal PSEJ*, 2 (1), 56-67.
- Dyah, N.A., Endang, K., Fahrauk, K., 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*), *Jurnal Ilmia Farmasi*, 2 (2), 45-49.
- Erwianto, 2013, *Pedoman Tatalaksana Dislipidemia Edisi ke 1*, Centra Communications, Jakarta.
- Faisal, H., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus L. Moench*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS, *Jurnal Akademi Farmasi*, 3 (3), 165: 172.
- Fajriansyah. Pengaruh Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) terhadap Kematian Larva Nyamuk *Aedes Aegypti*. 2015; 4(2) : 13-18.
- Fauzan, Husaini Anwar. 2019. Optimasi Campuran Asam Sitrat dan Asam Tartrat Sebagai Sumber Asam Dalam Formulasi Tablet Efervesen dari Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica L.*) Dengan Metode Simplex Lattice Design. *Skripsi*. Yogyakarta : Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
- Felicia, N., Widarta, I.W.R.W., dan Yusasrini, N.L.A., 2017, Pengaruh Ketuaan Daun dan Metode Pengolahan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Sensoris Teh Herbal Bubuk Daun Alpukat (*Persea americana Mill.*), Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

- Fessenden dan Fessenden, 1986, *Kimia Organik Edisi ke-3*. Diterjemahkan oleh A.H. Pudjatmaka, Erlangga, Jakarta.
- Ghulamahdi, M., Sandra, A.A., dan Nirwana., 2008, Peningkatan Laju Pertumbuhan dan Kandungan Klon Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) Melalui Periode Pencahayaan, *Bul. Agron*, (36) (1) 40-48.
- Gunawan, D., dan Mulyani, S., 2004, *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*, Penebat Swadaya, Yogyakarta.
- Hanani, E., 2015, *Analisis Fitokimia*, EGC, Jakarta.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi I*, ITB, Bandung.
- Hunter, D.J., dan Reddy, K.S., 2013, Noncommunicable Diseases. *The New England Journal of Medicine*, 369:1336-43.
- Parwata, I.M.O.A., 2016, *Antioksidan*, Universitas Udayana, Denpasar.
- Parwata, I.M.O.A., 2016, *Flavonoid*, Universitas Udayana, Denpasar
- Karadag, A., Saner, S., dan Ozcelik, B., 2009, Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities, *Food Analytical Methods*, 2:41-60.
- Khopkar, S.M., 2008, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta.
- Kurniawan, D.H., dan Sulaiman, T.N.S., 2009, *Teknologi Sediaan Farmasi*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Kusumaningrum, Y.N., 2012, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Rambutan (*Nephelium lappaceum*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Maradona, D., 2013, Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Durian, Daun Lengkek, Daun Rambutan Terhadap Bakteri *Streptococcus aureus* ATCC25925 dan *Escherichia coli* 25922, *Skripsi Fakultas Kedokteran Ilmu Kesehatan*, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Mardawati, E., Filianty, dan Herta, 2008, *Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya*, Unpad, Bandung.

- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, ITB, Bandung.
- Masriani dan Budi, F.S., 2017, Penapisan Fitokimia Ekstrak Metanol Beberapa Tumbuhan Obat Asal Kalimantan Barat, *Jurnal Pendidikan Kimia*, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Molyneux, P., 2004, The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) for Estimating Antioxidant Activity, *J Science Technology*, 26 (2), 211-219.
- Muhtadi., Haryoto., Tanti, A.S., Peni I., dan Andi, S., 2013 Pengembangan Potensi Ekstrak Kulit Buah Rambutan Sbagai Bahan Obat Herbal Antihiperkolesterol, *Biomedika*, 5 (2).
- Murray R, K., Granner D.K., Rodwell V, W., 2009, *Biokimia Harper*. Diterjemahkan oleh Andri Hartono, Edisi 27, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Noer, Shafa., Rosa Dewi Pratiwi dan Efri Gresinta. 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia L.*). *Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*.
- Pangaribunan, F. X. R., Sitorus, S., Saleh, C. 2016, Uji Fitokimia Dan Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), *Jurnal Atomik*, 01(2), 81-85
- Prameswari, O.M., dan Widjanarko, S.B., 2014, Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Histopatologi Tikus Diabetes Militus, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2), 16-27
- Pulungan, W.U., 2018, Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol Daun Mobe (*Artocarpus Lacucha Buch-Ham.*) dengan Metode Pemerangkapan ABTS, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Medan.
- Putri, A.T., 2016, Pengaruh Ekstrak Etanolik Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) Sebagai Antiacne Terhadap Aktivitas Bakteri *Propionibacterium acnes*, *Skripsi*, Progam Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung, Semarang.
- Redha, A., 2010, Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Perannya dalam Sistem Biologis, *Jurnal Belian*, 9 (2), 196-202.
- Riyanto, A., 2011, *Pengolahan dan analisis data kesehatan*, Nuha Medika, Yogyakarta.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB, Bandung.

- Rosidah, T.D., Kusmiyati, M., Wijayanti, F.R., 2013, Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih dengan Metode DPPH, *Jurnal ISTEK*, 7 (1), 2.
- Sarker, S.D., Latif, Z., dan Gray, 2006, *Natural products isolation*, Humana Press Inc, New Jersey.
- Sayuti, K., dan Yenrina, 2015, *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Andalas University Press, Padang.
- Senevirathne, M., S. Kim, N., Siriwardhana, J. Ha, K. dan Y. Jeon., 2006, Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition, *Food Science and Technology International*, 12, 27-38.
- Shalaby, E., dan Shanab, S.M.M., 2013, Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*, *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 42 (5), 556-564.
- Tian, Y., Crump C.J., Li, Y.M., 2018, Dual role of α -secretase cleavage in the regulation of γ -secretase activity for the amyloid production, *J. Biol Chem*, 285, 32549-32556.
- Triyono, 2018, *Teknik Sampling Dalam Penelitian*, Universitas Widya Dharma, Pontianak.
- Tjitrosoepomo, G., 2010, *Toksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, Gajah Mada University press, Yogyakarta.
- Ulfah, S., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Vifta, R., Wilantika., Advistasari, Y.D., 2019, Studi In Vitro Potensi Antioksidan dan Aktivitas Antidiabetes Fraksi Etil Asetat Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.), *Tumbuhan Obat Indonesia*, 12 (2), 93-102
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E.P., dan Wahyuono, S., 2011, Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis, *Majalah Obat Tradisional*, Pontianak.
- Waluyo, K., 2010, *Kiat Sukses Beragrobisnis Rambutan*, Epsilon Group, Bandung.

- Wicaksono, I.B., Ulfah, M., 2017, Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Dengan Metode Dpph (2,2-difenil-1-dipkrilhidrazil), *J Inovasi Teknik Kimia*, 2 (1), 44-48.
- Yuda, A.A.G.P., Rolan. R., Arsyik. I., 2015. Kandungan Metabolit Sekunder Dan Efek Penurunan Glukosa Darah Ekstrak Biji Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Pada Mencit (*Mus musculus*), *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1 (3).
- Yuda, K., Anthara, M. S., dan Dharmayudha, A.A.G.O, (2013), Identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak etanol buah Pare (*Momordica charantia*) dan pengaruhnya terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan, *Buletin Veteriner Udayana*, 5 (2), 87-95.
- Yunusa, A.K., Abdullahi, N., Rilwan, A., Abdulkadir, A.R., Dandago, A., 2018, DPPH Radical Scavenging Activity And Total Phenolic Content Of Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Peel And Seed, *Annals. Food Science and Technology*, 19 (4).