



**PERBANDINGAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL  
FRAKSI ETIL ASETAT DARI 4 VARIAN BUAH KENTU  
(*Chrysophyllum cainito* Linn.)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Nur Mentarie Damayanti  
NIM 122210101020**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**PERBANDINGAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL  
FRAKSI ETIL ASETAT DARI 4 VARIAN BUAH KENTU  
(*Chrysophyllum cainito* Linn.)**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Nur Mentarie Damayanti  
NIM 122210101020**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Elis Lestariningsih dan Ayahanda Ahmad Efendy, sebagai tempatku bersandar dan berbagi keluh kesah, yang selalu memberiku motivasi, doa-doa setiap sujudnya, kasih sayang, keikhlasan yang tak terhingga
2. Adik-adikku tercinta Asri Dwi Wulandari dan Siti Soleha Rahayu, sebagai tempatku berbagi keluh kesah, yang selalu memberikan semangat dan keceriaan
3. Keluarga besar di Kencong yang selalu memberikan semangat dan doa untuk penyelesaian studi
4. Bapak dan ibu guru sejak TK sampai Perguruan Tinggi yang telah memberikan nasehat, ilmu dan bimbingan dengan penuh kesabaran
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

Maka bersabarlah dengan kesabaran yang indah  
(terjemahan Q.S Al-Ma'arij ayat 5) \*)

*You don't always need a plan. Sometimes you just need to breathe, trust, let go, and  
see what happens (Mandy Hale)\*\*)*



---

\*) Departemen Agama RI. 1998. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasoro Grafindo

\*\*\*) Hale, Mandy. 2014. *I've Never Been to Vegas, but My Luggage Has: Mishaps and Miracles on the Road to Happily Ever After*. London. Thomas Nelson.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Mentarie Damayanti

NIM : 122210101020

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Perbandingan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat dari 4 Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* Linn.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 Oktober 2016

Yang menyatakan,



Nur Mentarie Damayanti

NIM 122210101020

SKRIPSI

**PERBANDINGAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL  
FRAKSI ETIL ASETAT DARI 4 VARIAN BUAH KENITU  
(*Chrysophyllum cainito* Linn.)**

Oleh

**Nur Mentarie Damayanti  
NIM 122210101020**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia Ningsih, S.Farm., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-Res., Ph.D., Apt

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Perbandingan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat dari 4 Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* Linn.)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Senin, 17 Oktober 2016

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

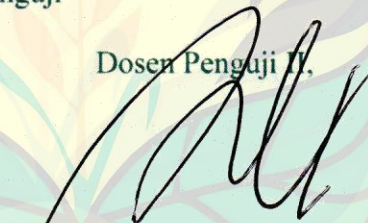
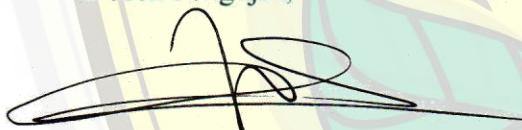


Indah Yulia Ningsih, S.Farm., Apt., M.Farm. Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-Res., Ph.D., Apt.  
NIP. 198407122008122002 NIP. 197807212003121001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,



Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 198107232006042002

Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt., M.Sc.  
NIP. 198401242008011001

Mengesahkan  
Dekan,



Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.  
NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Perbandingan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat dari 4 Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* Linn.);** Nur Mentarie Damayanti, 122210101020; 2016; 56 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Sindrom metabolik merupakan konstelasi yang saling berhubungan dari berbagai faktor fisiologis, biokimia, klinis, dan metabolik yang secara langsung meningkatkan risiko penyakit jantung, diabetes melitus, kanker, dan penyakit neurodegeneratif. Salah satu pemicu terjadinya sindrom metabolik dapat disebabkan jumlah senyawa radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas normal, sehingga sistem pertahanan tubuh tidak efektif melindungi sel dari senyawa radikal bebas. Hal ini mengakibatkan kerusakan lemak, protein, dan asam deoksiribosa nukleat (ADN) yang mengarah pada disfungsi sel hingga kematian sel. Alternatif pencegahan sindrom metabolik dapat dilakukan dengan cara mengatur asupan gizi (diet) menggunakan senyawa polifenol dan flavonoid sebagai antioksidan. Sekelompok senyawa fenolik dan flavonoid bertindak sebagai gugus penerima elektron dalam membentuk senyawa radikal fenoksil. Senyawa radikal fenoksil lebih stabil dan tidak reaktif, disebabkan adanya resonansi ikatan rangkap terkonjugasi. Senyawa polifenol dan flavonoid sebagian besar ditemukan dalam buah, sayuran, sereal dan minuman. Buah-buahan seperti anggur, apel, pir, dan ceri per 100 gram mengandung sekitar 200-300 mg polifenol. Buah kenitu telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan kadar fenolik dan flavonoid total cukup tinggi dalam ekstrak tunggalnya, tetapi belum ada penelitian tentang penetapan kadar fenolik dan flavonoid total di dalam fraksi yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar fenolik dan flavonoid total fraksi etil asetat dari berbagai macam varian buah kenitu.



Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak metanol dari serbuk daging buah kenitu menggunakan metode ultrasonikasi dan dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya secara berturut-turut dari pelarut nonpolar (*n*-heksana) hingga pelarut semi polar (etil asetat). Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan kandungan senyawa kimia dalam tanaman pada beberapa fraksi sesuai tingkat kepolarannya, sehingga diharapkan dapat diperoleh kandungan aktif yang diduga memiliki aktivitas biologis dalam jumlah yang lebih tinggi. Fraksi etil asetat dari beberapa macam varian buah kenitu hijau bulat besar (BB), hijau bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL), dan ungu (U) ditentukan kadar fenolik total dan flavonoid total dengan menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 762 nm dan 423,5 nm.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat buah kenitu HL mengandung fenolik dan flavonoid total dalam jumlah yang tertinggi, yaitu  $1.327,044 \pm 1,935$  mg GAE/g fraksi dan  $9,597 \pm 0,043$  mg QE/g fraksi. Berikutnya, kandungan fenolik dan flavonoid total dari fraksi etil asetat buah kenitu BK sebesar  $845,710 \pm 2,534$  mg GAE/g fraksi dan  $2,806 \pm 0,063$  mg QE/g fraksi. Kemudian, kandungan fenolik dan flavonoid total fraksi etil asetat buah kenitu U sebesar  $382,533 \pm 2,534$  mg GAE/g fraksi dan  $1,917 \pm 0,041$  mg QE/g fraksi. Selanjutnya, kandungan fenolik dan flavonoid total fraksi etil asetat buah kenitu BB yaitu sebesar  $279,087 \pm 2,737$  mg GAE/g fraksi dan  $1,118 \pm 0,052$  mg QE/g fraksi. Perbedaan kadar fenolik dan flavonoid total pada masing-masing varian dapat disebabkan oleh faktor genetik, variasi fisiologis, kondisi lingkungan dan lokasi geografis daerah tumbuh. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ada hubungan positif antara kadar fenolik total dan flavonoid total dari fraksi etil asetat berbagai varian buah kenitu ( $R = 0,931$ ).

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbandingan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat dari 4 Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* Linn.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Indah Yulia Ningsih, S.Farm., Apt., M.Farm. selaku dosen pembimbing utama dan Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., MSc-Res., Ph.D., Apt. selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini.
3. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji I dan Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt., M.Sc. sebagai dosen penguji II yang banyak memberikan masukan, perhatian, dan waktunya selama penulisan tugas akhir ini.
4. Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan.
5. Ibunda terkasih Elis Lestariningsih dan Ayahanda Ahmad Efendy, atas doa yang tiada henti, semangat dan kasih sayang yang telah diberikan.
6. Adik-adikku tercinta Asri Dwi Wulandari dan Siti Soleha Rahayu, atas motivasi, semangat dan dukungan selama pengerjaan skripsi.

7. Mbak Anggra dan Bu Widi selaku Teknisi Laboratorium Biologi Farmasi, Mbak Hani dan Bu Wayan selaku Teknisi Laboratorium Kimia Farmasi yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.
8. Sahabatku Septian Eka Permana atas semangat, motivasi, dan dukungan selama pengerjaan tugas akhir dan penelitian.
9. Teman-temanku Ajeng, Oktin, dan Diana atas semangat kerja keras serta motivasi dalam menyusun tugas akhir ini.
10. Teman-teman penelitian di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama pengerjaan tugas akhir.
11. Sahabat-sahabatku Fakultas Farmasi angkatan 2012 dan semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penulisan tugas akhir ini.
12. Pihak-pihak yang yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Jember, 17 Oktober 2016

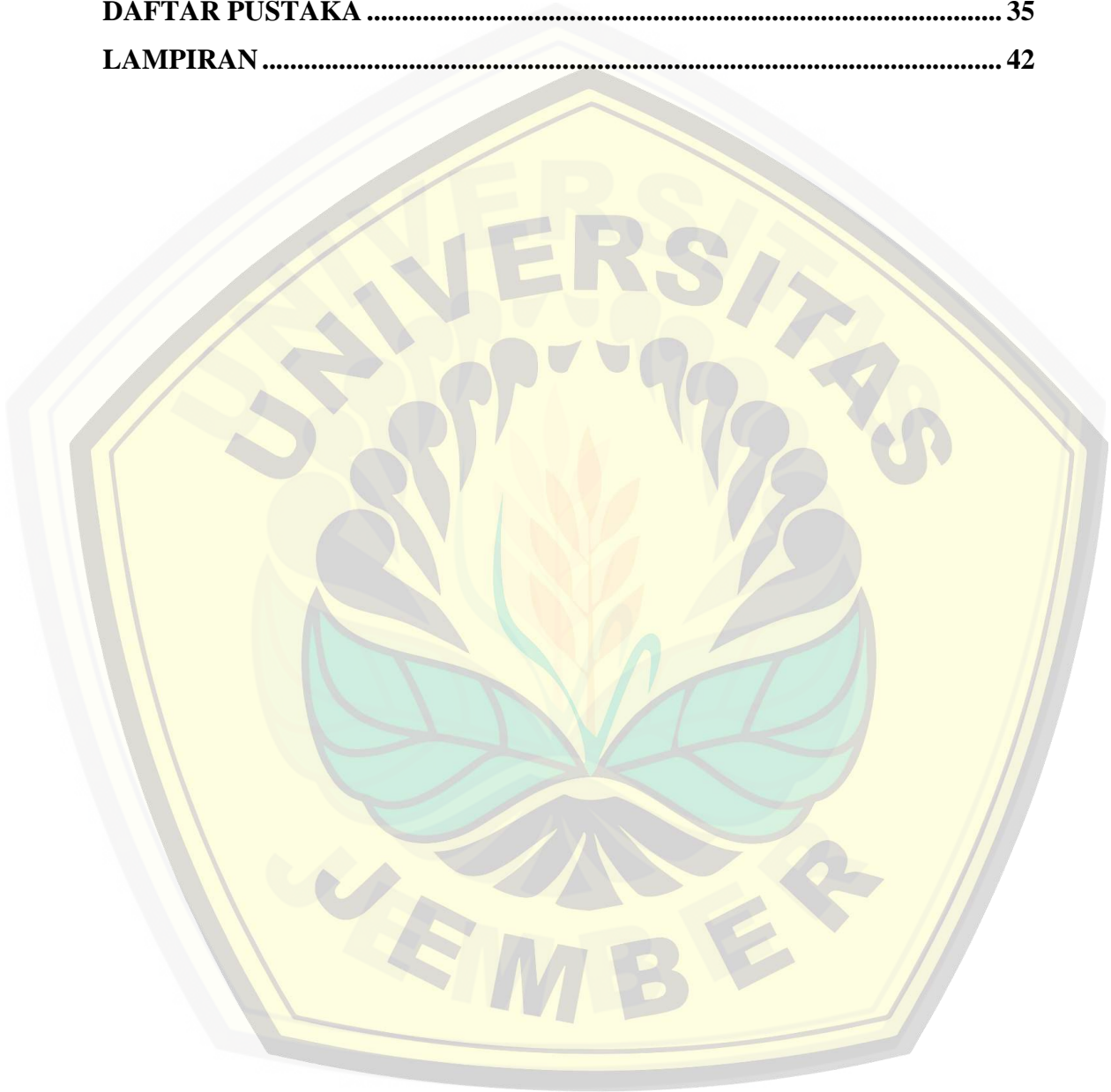
Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Tinjauan tentang <i>Chrysophyllum cainito</i> Linn. (Kenitu).....	5
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi.....	5
2.1.2 Morfologi Kenitu .....	5
2.1.3 Kandungan Kimia Kenitu .....	7
2.1.4 Manfaat Etnofarmakologi dan Farmakologi.....	9
2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi Buah Kenitu .....	10

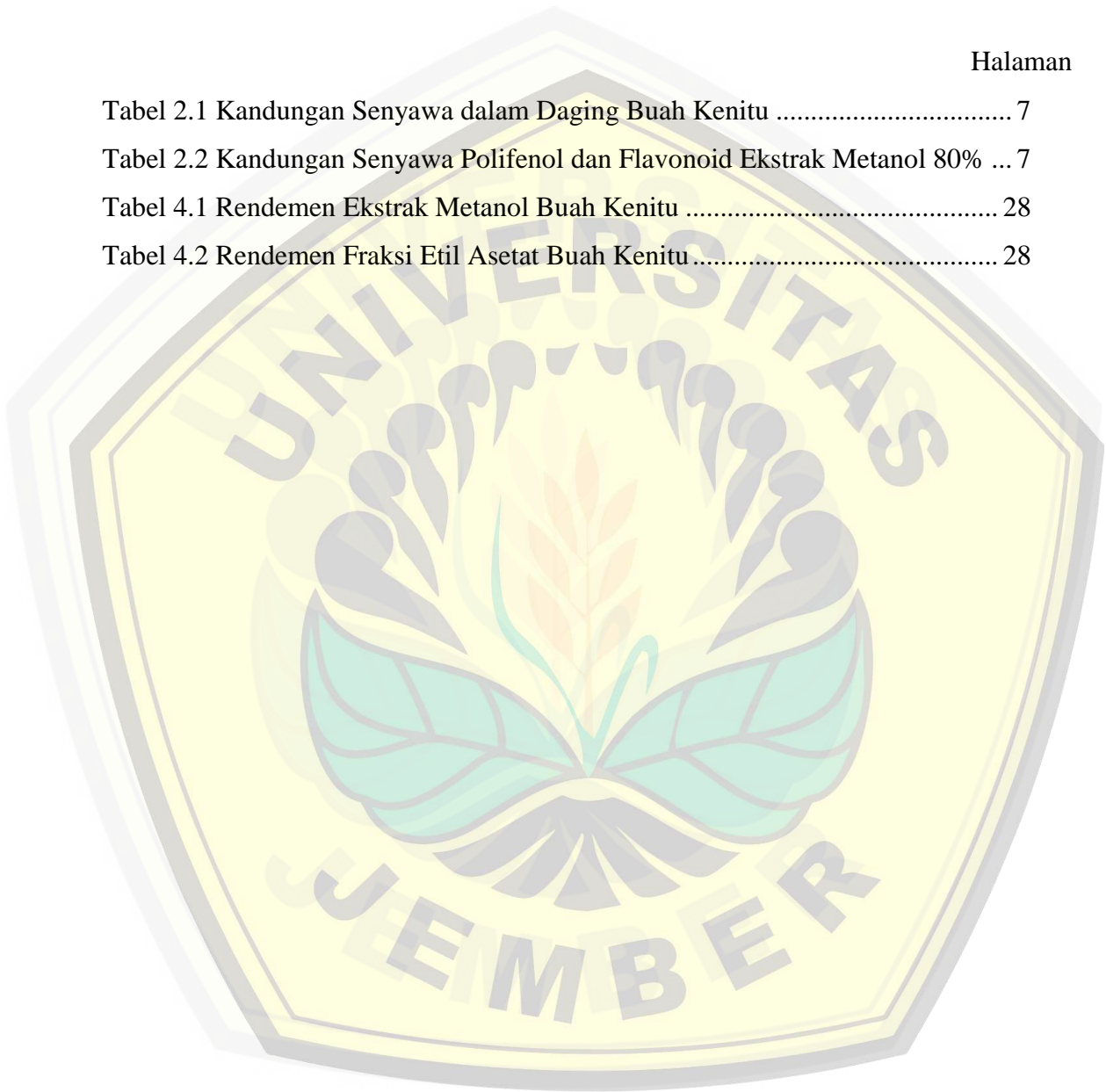
2.3	Metabolit Sekunder .....	11
2.4	Stres Oksidatif .....	14
2.5	Manfaat Senyawa Polifenol Terhadap Kesehatan .....	15
2.6	Manfaat Senyawa Flavonoid Terhadap Kesehatan .....	16
2.7	Spektrofotometri Uv-Vis .....	17
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>		<b>19</b>
3.1	Jenis Penelitian .....	19
3.2	Lokasi dan Waktu Penelitian .....	19
3.3	Variabel Penelitian .....	19
3.4	Definisi Operasional .....	20
3.5	Bahan dan Alat Penelitian .....	20
3.5.1	Bahan-bahan Penelitian .....	20
3.5.2	Alat-alat Penelitian .....	21
3.6	Cara Kerja .....	21
3.6.1	Penyiapan Simplisia .....	21
3.6.2	Ekstraksi .....	21
3.6.3	Fraksinasi .....	22
3.6.4	Penetapan Kadar Fenolik Total .....	22
3.6.5	Penetapan Kadar Flavonoid Total .....	24
3.7	Analisis Data .....	25
3.8	Skema Penelitian .....	26
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>28</b>
4.1	Ekstrak Metanol Buah Kenitu .....	28
4.2	Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu .....	28
4.3	Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total .....	29
4.4	Penentuan Kadar Flavonoid Total .....	30
4.5	Korelasi Kadar Fenolik dan Flavonoid .....	31
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>		<b>34</b>

5.1 Kesimpulan.....	34
5.2 Saran .....	34
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>42</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Senyawa dalam Daging Buah Kenitu .....	7
Tabel 2.2 Kandungan Senyawa Polifenol dan Flavonoid Ekstrak Metanol 80% ...	7
Tabel 4.1 Rendemen Ekstrak Metanol Buah Kenitu .....	28
Tabel 4.2 Rendemen Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu .....	28



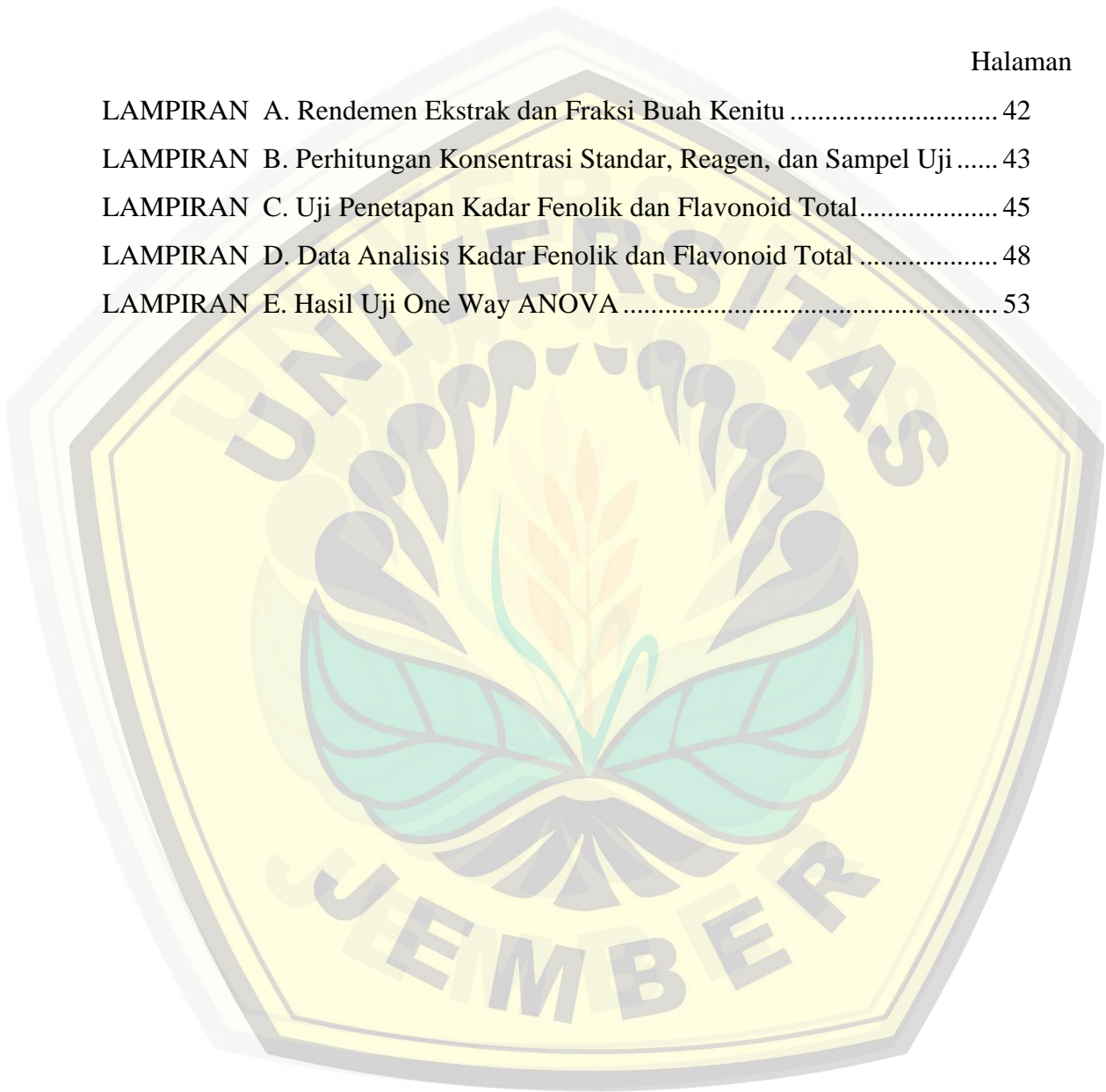
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi Buah Kenitu .....	6
Gambar 2.2 Struktur Umum Asam Fenolik .....	12
Gambar 2.3 Struktur Umum Flavonoid .....	13
Gambar 2.4 Struktur Umum Stilben .....	13
Gambar 2.5 Struktur Umum Lignan .....	14
Gambar 2.6 Pembentukan Senyawa Radikal Fenoksil .....	15
Gambar 3.1 Skema Uji Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total.....	26
Gambar 3.2 Skema Fraksinasi Ekstrak Buah Kenitu.....	27



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
LAMPIRAN A. Rendemen Ekstrak dan Fraksi Buah Kenitu .....	42
LAMPIRAN B. Perhitungan Konsentrasi Standar, Reagen, dan Sampel Uji .....	43
LAMPIRAN C. Uji Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total .....	45
LAMPIRAN D. Data Analisis Kadar Fenolik dan Flavonoid Total .....	48
LAMPIRAN E. Hasil Uji One Way ANOVA .....	53



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sindrom metabolik merupakan konstelasi yang saling berhubungan dari berbagai faktor fisiologis, biokimia, klinis, dan metabolik yang secara langsung meningkatkan risiko penyakit jantung, diabetes melitus, kanker, dan penyakit neurodegeneratif (Lutsey *et al.*, 2008). Sindrom metabolik ditandai dengan beberapa kondisi, antara lain: obesitas sentral, peningkatan kadar trigliserida darah, penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL), kolesterol darah, tekanan darah tinggi, peningkatan kadar glukosa darah, dan resistensi insulin (Kaur, 2014).

Insiden sindrom metabolik diduga berhubungan dengan perubahan gaya hidup akibat pengaruh globalisasi. Gaya hidup masyarakat di Indonesia yang dulu suka mengonsumsi makanan tradisional, saat ini beralih menjadi masyarakat modern yang lebih sering mengonsumsi makanan instan. Prevalensi sindrom metabolik di Indonesia berdasarkan kriteria *National Cholesterol Educational Program Adult Treatment Program III* (NCEP-ATP III) sebesar 23%. Menurut Suhaema & Masthalina (2015), prevalensi pada perempuan sebesar 26,6%, sedangkan pada laki-laki sebesar 18,3%. Sindrom metabolik lebih banyak dialami oleh perempuan disebabkan akumulasi trigliserida pada jaringan adiposa yang mengakibatkan metabolisme lemak meningkat. Keadaan ini dapat meningkatkan produksi senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam sirkulasi darah maupun jaringan adiposa. Jika jumlah senyawa radikal bebas yang ada dalam tubuh melebihi kapasitas normal, sedangkan sistem pertahanan tubuh tidak efektif melindungi sel dari senyawa radikal bebas. Hal ini mengakibatkan kerusakan lemak, protein, dan asam deoksiribosa nukleat (ADN) yang mengarah pada disfungsi sel hingga kematian sel (Li *et al.*, 2013).

Salah satu alternatif pencegahan sindrom metabolik dengan cara mengatur asupan gizi (diet) menggunakan senyawa polifenol. Senyawa polifenol sebagian besar ditemukan dalam buah, sayuran, sereal, dan minuman. Buah-buahan seperti anggur, apel, pir, dan ceri per 100 gram mengandung sekitar 200-300 mg polifenol (Croniezer *et al.*, 2006). Sekelompok senyawa fenolik bertindak sebagai gugus penerima elektron dalam membentuk senyawa radikal fenoksil. Senyawa radikal fenoksil lebih stabil dan tidak reaktif, disebabkan adanya resonansi ikatan rangkap terkonjugasi (Kehrer *et al.*, 1994). Senyawa polifenol merupakan salah satu hasil metabolit sekunder tanaman berasal dari biosintesis jalur shikimat dan mevalonat (Croniezer *et al.*, 2006). Senyawa polifenol memiliki satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil disamping substituen lainnya. Senyawa polifenol secara umum dapat larut dalam pelarut polar dan sebagian besar berikatan dalam bentuk glikosida (Harborne, 1984). Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa polifenol dengan struktur utama *benzo-γ-pyrone* (Clifford & Scalbert, 2000). Senyawa flavonoid secara umum memiliki kerangka dasar dengan 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen ( $C_6$ ) terikat pada satu rantai propan ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan  $C_6-C_3-C_6$  (Achmad, 1985). Manfaat utama senyawa polifenol dan flavonoid sebagai antioksidan yang mampu melindungi tubuh dari radiasi sinar ultraviolet, mencegah perkembangan kanker, penyakit kardiovaskular, antidiabetes, osteoporosis, dan penyakit neurodegeneratif. Selain itu, senyawa polifenol dan flavonoid memiliki potensi sebagai antibakteri, antivirus, antiinflamasi, antialergi, antitrombolitik, agen imunomodulator, dan agen vasodilator (Vauzour *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit adalah *Chrysophyllum cainito* Linn. (kenitu). Di Indonesia tanaman kenitu tersebar luas di pulau Jawa bagian timur dan daerah pegunungan rendah (Hidayat *et al.*, 2007). Menurut pengobatan tradisional di Amerika tropis dan Karibia buah kenitu digunakan mengobati inflamasi, laringitis, pneumonia, dan pendarahan.

Dekok daging buah kenitu mampu menurunkan demam, antidiabetes, dan antiangina. Berdasarkan penelitian Luo *et al.* (2002), senyawa isolat asam galat dan kuersetin dari fraksi etil asetat buah kenitu varian ungu yang berasal dari New York memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 28,206 dan 27,204 mg/L. Menurut Sofyan (2016), aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% buah kenitu varian hijau bulat besar (BB), hijau bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL), dan ungu (U) yang berasal dari Jember memiliki nilai  $IC_{50}$ , berturut-turut sebagai berikut: 24,467; 39,433; 27,424; dan 26,951 mg/L.

Menurut penelitian Luo *et al.* (2000), kadar fenolik dan flavonoid total fraksi etil asetat buah kenitu berturut-turut, sebagai berikut: 1,6 mg GAE/kg simplisia dan 0,5 mg QE/kg simplisia. Berdasarkan penelitian Sofyan (2016), kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak etanol 70% buah kenitu varian BB, BK, HL dan U berturut-turut, sebagai berikut: 26,016 mg GAE/kg simplisia dan 15,968 mg QE/kg simplisia; 21,406 mg GAE/kg simplisia dan 14,897 mg QE/kg simplisia; 22,283 mg GAE/kg simplisia dan 15,182 mg QE/kg simplisia; 23,247 mg GAE/kg simplisia dan 15,811 mg QE/kg simplisia.

Berdasarkan data korelasi antara aktivitas antioksidan terhadap kadar fenolik dan flavonoid total, serta kelarutan golongan senyawa fenolik dan flavonoid total yang lebih tinggi dalam etil asetat dapat diperkirakan potensi bioaktivitas metabolit aktif di dalam fraksi etil asetat hampir sama dengan ekstrak etanol 70%. Oleh sebab itu, perlu dilakukan uji penetapan kadar fenolik dan flavonoid total fraksi etil asetat dari 4 varian buah kenitu yang berasal dari Jember dan sekitarnya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan, permasalahan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapakah kadar fenolik total fraksi etil asetat dari varian buah kenitu BB, BK, HL, dan U ?
2. Berapakah kadar flavonoid total fraksi etil asetat dari varian buah kenitu BB, BK, HL, dan U ?
3. Apakah ada hubungan peningkatan kadar fenolik total terhadap kadar flavonoid total ?

## 1.3 Tujuan

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kadar fenolik total fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL, dan U.
2. Mengetahui kadar flavonoid total fraksi etil asetat buah kenitu varian BB, BK, HL, dan U.
3. Mengetahui adanya hubungan peningkatan kadar fenolik total terhadap kadar flavonoid total.

## 1.4 Manfaat

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi tentang potensi buah kenitu sebagai alternatif diet pencegahan penyakit metabolik dan dasar pengembangan Obat Herbal Terstandar (OHT).
2. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan nilai ekonomi kenitu yang banyak tumbuh di pulau Jawa, khususnya area Jember dan sekitarnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang *Chrysophyllum cainito* Linn. (Kenitu)

#### 2.1.1 Definisi dan Klasifikasi

Taksonomi Kenitu (*Chrysophyllum cainito* Linn.) adalah sebagai berikut:

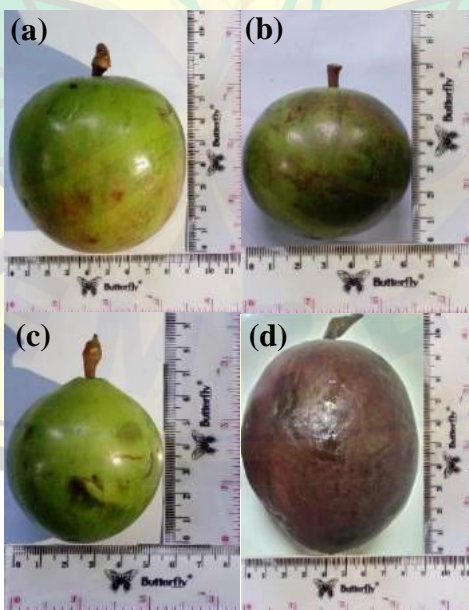
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ericales
Famili	: Sapotaceae
Genus	: <i>Chrysophyllum</i>
Spesies	: <i>Chrysophyllum cainito</i> Linn. (ITIS, 2016)

Tanaman kenitu berasal dari Greater Antillen di Karibia, kemudian banyak dibudidayakan di daerah tropis Tengah, Amerika Selatan, Kepulauan Cayman (Karibia), Kuba, Republik Dominika, Haiti, Jamaika, dan Puerto Rico. Selain itu, pada wilayah tropis dan subtropis tersebar luas sampai di Florida, Taiwan, India, Thailand, Filipina, Vietnam, Malaysia, Indonesia, dan Australia Utara (Lim, 2013). Tanaman kenitu di Indonesia banyak ditemukan di pulau Jawa bagian timur dan daerah pegunungan rendah. Di daerah Jember dan area sekitarnya terdapat dua macam kenitu yaitu kenitu hijau (buah bentuk bulat dan buah bentuk lonjong), dan satu jenis kenitu ungu (buah bentuk bulat) (Hidayat *et al.*, 2007).

#### 2.1.2 Morfologi Kenitu

Pohon kenitu berdiri tegak dengan ketinggian sekitar 8 sampai 20 meter, dengan diameter batang lebih dari 60 cm padat, dan keras. Batang biasanya lurus,

silindris, bergalur, kadang muncul akar banir kecil, permukaan kulit batang kasar, tidak teratur, berwarna coklat, dan jika disayat bergetah lateks putih. Daun berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 5 sampai 15 cm, berwarna hijau tua dan pada permukaan atas mengkilap, bagian bawah daun dilapisi warna coklat kemerahan. Susunan bunga majemuk berada di ranting, berwarna putih kekuningan berkelompok 5 sampai 35 kuntum bunga kecil bertangkai panjang. Pohon kenitu menghasilkan buah setelah berumur 5-6 tahun. Buah memiliki bentuk bulat hingga bulat telur sangsang dengan diameter 5 sampai 10 cm. Buah kenitu berwarna hijau saat muda dan berubah menjadi hijau kekuningan atau hijau keunguan atau ungu saat masak. Kulit buah tebal, halus, agak mengkilap, kadang berwarna ungu kusam pada beberapa varietas, juga mengandung getah yang berwarna putih. Jika buah diiris melintang, daging buah berwarna putih atau keunguan seperti kulit, lembut, kadang berglanular, rasa manis, dan endocarpium berwarna putih terdapat 4 sampai 11 ruang yang bentuknya mirip seperti bintang. Biasanya ada 1 biji di setiap segmen dan terdiri dari 3 sampai 10 butir dalam 1 buah (Lim, 2013). Adapun perbedaan bentuk buah kenitu pada beberapa varian, sebagai berikut :



Gambar 2.1 Morfologi buah kenitu varian: (a) hijau bulat besar (b) hijau bulat kecil (c) hijau lonjong, dan (d) ungu

### 2.1.3 Kandungan Kimia Kenitu

Buah kenitu bergizi tinggi dan kaya antioksidan. Berdasarkan data hasil analisis di Amerika Tengah komposisi kandungan daging buah kenitu hijau dan ungu per 100 gram berturut-turut, sebagai berikut:

Tabel 2.1 Kandungan senyawa dalam daging buah kenitu

Kandungan senyawa	Kenitu hijau	Kenitu ungu
Protein	0,7 g	0,3 g
Lemak	1,1 g	0,6 g
Karbohidrat	14,6 g	17,4 g
Kalsium	17 mg	14 mg
$\beta$ -karoten	5 $\mu$ g	-
Vitamin A (ekuivalen retinol)	1 $\mu$ g	-
Riboflavin	0,02 mg	0,01 mg
Niasin	0,8 mg	0,9 mg
Asam askorbat	7 mg	8 mg

(Sumber: Santos-Acuin *et al.*, 1997)

Fraksi etil asetat buah kenitu memiliki kandungan utama 9 konstituen antioksidan polifenol, yaitu: katekin, epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002), sedangkan dalam fraksi semipurifikasi air mengandung sianidin-3-*O*- $\beta$ -glukopiranosida (Einbond *et al.*, 2004). Berikutnya, kandungan senyawa polifenol ekstrak metanol 80% buah kenitu hijau dan ungu (mg/g) yang berasal dari Thailand, berturut-turut adalah sebagai berikut:

Tabel 2.2 Kandungan senyawa polifenol dan flavonoid ekstrak metanol 80%

Kandungan senyawa	Kenitu hijau	Kenitu ungu
Senyawa polifenol		
Asam galat	10,65 mg	2,36 mg
Asam prokatekin	7,18 mg	5,68 mg
<i>p</i> -hidroksi asam benzoat	2,89 mg	-
Asam klorogenat	1,99 mg	40,68 mg
Asam 4-hidroksi-3,5-benzoat	22,69 mg	-
Asam <i>p</i> -kumarin	2,35 mg	-
Asam ferulat	64,28 mg	14,59 mg
Asam 4-hidroksi-3,5-dimetoksinamat	3,98 mg	-
Senyawa flavonoid		
Rutin	12,65 mg	50,36 mg



Mirisetin	53 mg	68,41 mg
Luteolin	13,86 mg	11,37 mg
Kuersetin	17,88 mg	20,07 mg
Apigenin	0,85 mg	0,91 mg
Kaempferol	0,76 mg	0,83 mg
Gula		
D(+)-sukrosa	40,64mg	-
D(+)-maltosa	-	113,64 mg
D(+)-glukosa	52,30 mg	99,08 mg
D(+)-galaktosa	2,80 mg	-
D(+)-fruktosa	83,69 mg	117,43 mg
Vitamin C	0,16 mg/g	-
Serat viber	3,47 g/100g	-

(Sumber: Kubola *et al.*, 2011)

Berdasarkan data penetapan kadar fenolik dan flavonoid total fraksi etil asetat buah kenitu ungu yang berasal dari New York berturut-turut, yaitu: 1,6 mg GAE/kg simplisia dan 0,5 mg QE/kg simplisia (Luo *et al.*, 2002). Menurut penelitian Kubola *et al.* (2011) kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak buah kenitu hijau bulat besar dan ungu yang berasal dari Thailand berturut-turut, sebagai berikut: 17,88 mg GAE/g ekstrak dan 11,17 mg QE/g ekstrak; 28,54 mg GAE/g ekstrak dan 12,92 mg QE/g ekstrak.

Menurut penelitian Sofyan (2016), kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak etanol 70% buah kenitu varian hijau bulat besar (BB), hijau bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL), dan ungu (U) yang berasal dari daerah Jember berturut-turut, sebagai berikut: 26,016 mg GAE/kg simplisia dan 15,968 mg QE/kg simplisia; 21,406 mg GAE/kg simplisia dan 14,897 mg QE/kg simplisia; 22,283 mg GAE/kg simplisia dan 15,182 mg QE/kg simplisia; 23,247 mg GAE/kg simplisia dan 15,811 mg QE/kg simplisia.

Data hasil identifikasi kandungan minyak atsiri pada buah ditemukan adanya 104 komposisi senyawa dengan konstituen utama, yaitu: (*e*)-2-hexenal, 1-hexanol, limonen, *linalool*,  *$\alpha$ -copaene*, dan asam heksadekanoat (Pino *et al.*, 2002).

#### 2.1.4 Manfaat Etnofarmakologi dan Farmakologi

Daging buah dari tanaman kenitu memiliki rasa lezat yang dapat dikonsumsi secara langsung, bahan campuran salad buah dan es krim. Di Jamaika buah ini biasanya diolah dalam bentuk manisan. Bagian kulit buah kenitu mengandung getah pahit, sehingga tidak dapat dikonsumsi. Emulsi dari bagian biji kenitu memiliki rasa seperti susu almond (Lim, 2013).

Menurut studi etnofarmakologi di Amerika tropis dan Karibia, secara empiris buah kenitu digunakan untuk mengobati inflamasi, laringitis, pneumonia, dan perdarahan. Dekok daging buah kenitu mampu menurunkan demam, antidiabetes, dan antiangina. Dekok kulit batang digunakan sebagai tonik, stimulan, antiemetik, antidiare, antidisentri, mengobati penyakit *gonore*, dan radang infeksi saluran kemih. Serbuk biji kenitu dikonsumsi bersama air sebagai tonik, diuretik, dan obat penurun panas. Getah dari pohon dapat mengobati sepsis dan serbuk keringnya digunakan sebagai obat cacing (Lim, 2013).

Berdasarkan data uji aktivitas antioksidan dari senyawa isolat asam galat dan kuersetin fraksi etil asetat buah kenitu varian ungu yang berasal dari New York memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 28,206 dan 27,204 mg/L (Luo *et al.*, 2002). Menurut penelitian Hidayat *et al.* (2007), aktivitas antioksidan ekstrak air dan metanol buah kenitu varian hijau bulat, hijau lonjong, dan merah bulat memiliki nilai  $IC_{50}$ , berturut-turut sebagai berikut: 645 dan 1.279  $\mu\text{g/mL}$ ; 427 dan 550  $\mu\text{g/mL}$ ; 169 dan 426  $\mu\text{g/mL}$ .

Berdasarkan penelitian Kubola *et al.* (2011) ekstrak metanol 80% buah kenitu hijau bulat besar dan ungu memiliki aktivitas antioksidan terhadap reduksi ion feri (FRAP) masing-masing bernilai 36,98 dan 44,92 mmol  $\text{FeSO}_4/\text{g}$ , sedangkan aktivitas antioksidan dalam DPPH masing-masing bernilai 94,40 dan 95,32%, serta aktivitas antioksidan terhadap vitamin C (AEAC) yaitu 0,88 dan 0,82 mg  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6/\text{g}$ . Berdasarkan data penelitian Sofyan (2016), aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70%

buah kenitu varian BB, BK, HL, dan U terhadap senyawa radikal bebas DPPH memiliki nilai  $IC_{50}$ , berturut-turut sebagai berikut: 24,467; 39,433; 27,424; dan 26,951 mg/L.

## 2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi Buah Kenitu

Ekstraksi merupakan langkah awal penarikan senyawa kimia yang dapat larut, sehingga terpisah dari bahan tidak terlarut dengan menggunakan pelarut cair (Depkes RI, 2000). Selama ekstraksi pelarut akan berdifusi ke dalam serbuk simplisia. Hal ini disebabkan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan cairan ekstraksi yang berada di luar sel. Pelarut mengalir masuk ke dalam ruang sel, sehingga menyebabkan protoplasma membengkak dan kandungan bahan aktif di dalam sel akan terlarut sesuai sifat fisika kimianya (Ncube *et al.*, 2008).

Fraksinasi cair-cair merupakan metode pemisahan dengan menggunakan dua cairan pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga senyawa tertentu terpisahkan menurut kesesuaian sifat dengan cairan pelarut berdasarkan prinsip *like dissolves like*. Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan kandungan senyawa kimia dalam tanaman pada beberapa fraksi sesuai tingkat kepolarannya (Thomas, 2007). Selain itu, juga dapat memisahkan senyawa yang tidak diharapkan dan diperoleh kandungan senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas biologis. Fraksinasi cair-cair adalah salah satu tehnik pemisahan atau pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan tingkat polaritas pelarut. Ekstrak kasar mengandung satu atau lebih zat terlarut, dipartisi dengan pelarut yang memiliki afinitas dan massa jenis berbeda menghasilkan dua aliran campuran, yaitu pelarut yang mengandung zat terlarut hasil ekstraksi senyawa diinginkan (*solute*) dan larutan sisa yang mengandung sedikit zat terlarut (*rafinat*) (Muller *et al.*, 2008). Hal ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi konstituen metabolit aktif yang lebih murni, serta mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas biologis.

### 2.3 Metabolit Sekunder

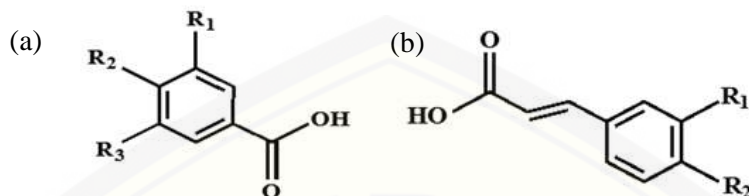
Metabolit sekunder merupakan produk metabolisme yang dibentuk melalui jalur khusus dari metabolit primer seperti karbohidrat, lemak, dan asam amino. Senyawa metabolit sekunder dapat disintesis jika terdapat keterbatasan nutrisi dalam medium tumbuh. Keterbatasan nutrisi dalam medium akan merangsang enzim-enzim metabolisme tumbuhan untuk membentuk metabolit sekunder agar dapat mempertahankan hidup (Croniezer *et al.*, 2006).

Senyawa polifenol sebagian besar ditemukan dalam buah, sayuran, sereal, dan minuman. Buah-buahan seperti anggur, apel, pir, dan ceri per 100 gram mengandung sekitar 200-300 mg polifenol. Senyawa polifenol merupakan salah satu hasil metabolit sekunder tanaman berasal dari biosintesis jalur shikimat dan mevalonat (Croniezer *et al.*, 2006). Senyawa polifenol memiliki satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil disamping substituen lainnya. Senyawa polifenol secara umum dapat larut dalam pelarut polar dan sebagian besar berikatan dalam bentuk glikosida (Harborne, 1984). Senyawa polifenol dapat diklasifikasikan berdasarkan substitusi rantai samping dari kerangka cincin aromatik pada struktur penyusunnya adalah sebagai berikut:

#### a. Asam Fenolik

Senyawa asam fenolik memiliki satu cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil disamping substituen lainnya. Biosintesis senyawa asam fenolik yang berasal dari L-fenilalanin pada jalur shikimat. Asam 3-hidroksi sinamat merupakan produk antara jalur shikimat dari substrat karbohidrat yang penting dalam biosintesis senyawa fenolik. Senyawa asam fenolik berdasarkan struktur kimia dapat dibedakan menjadi asam benzoat dan asam sinamat. Senyawa asam benzoat memiliki 7 atom karbon ( $C_6-C_1$ ), sedangkan senyawa asam sinamat memiliki 9 atom karbon ( $C_6-C_3$ ). Senyawa asam sinamat jarang ditemukan bebas di alam dan pada umumnya berada dalam bentuk ester dan alkohol siklik (Sanchez-Morena, 2002). Adapun struktur

umum senyawa asam hidroksi benzoat dan asam hidroksi sinamat adalah sebagai berikut:

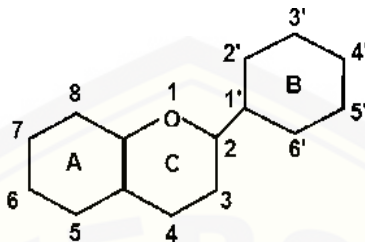


Gambar 2.2 Struktur umum asam fenolik: (a) asam hidroksi benzoat dan (b) asam hidroksi sinamat (Pandey & Rizvi, 2009)

#### b. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok polifenol dengan struktur utama *benzo-y-pyrone*. Sifat kimia senyawa flavonoid berdasarkan pada struktur, tingkat hidroksilasi, penambahan gugus substituen dan konjugasi serta derajat polimerisasi (Clifford & Scalbert, 2000). Senyawa flavonoid secara umum memiliki kerangka dasar dengan 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen ( $C_6$ ) terikat pada satu rantai propan ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan  $C_6-C_3-C_6$ . Kerangka dasar karbon pada flavonoid merupakan kombinasi antara jalur shikimat dan jalur mevalonat. Jalur shikimat dan jalur mevalonat adalah jalur utama biosintesis cincin aromatik. Cincin A pada struktur flavonoid berasal dari kondensasi 3 unit asetat atau mevalonat (jalur poliketida), sedangkan cincin B dan tiga atom karbon dari rantai propan berasal dari jalur fenil propanoid (jalur shikimat) (Achmad, 1985). Struktur cincin A dari flavonoid dapat berupa floroglusinol (*m*-trihidroksi) (Ribereau-Gayon, 1972) dan resorsinol (*m*-dihidroksi) (Haslan, 1998). Struktur cincin B dari flavonoid dapat berupa monohidroksi, *o*-dihidroksi, dan visinal trihidroksi benzena pirogalol. Berdasarkan kerangka dasar cincin heterosiklik pada flavonoid dapat berupa cincin piran, pirilium, dan *γ-pyrone* (Aron & Kennedy, 2008). Berdasarkan posisi cincin aromatik pada bagian *benzopyrane* dari flavonoid dapat diklasifikasikan ke dalam 4 kelompok, yaitu: kelompok flavonoid utama (*2*-fenil-*benzo-y-pyrone*), isoflavonoid (*3-benzo-y-pyrone*), neoflavonoids (*4-benzo-y-pyrone*), dan flavonoid sederhana

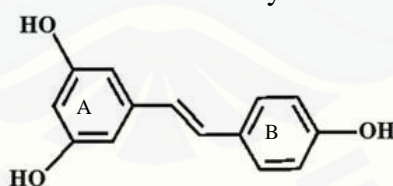
(Pereira *et al.*, 2009). Adapun struktur umum senyawa flavonoid adalah sebagai berikut:



Gambar 2.3 Struktur umum flavonoid ( Lazarush & Harold, 2000)

#### c. Stilben

Stilben merupakan salah satu kelompok senyawa polifenol yang merupakan etilen tersubstitusi oleh dua cincin fenil. Biosintesis stilben berasal dari hidoksilasi dan kondensasi *p*-kumaril koenzim A dengan 3 molekul melonil koenzim A unit asetat atau mevalonat. Senyawa stilben secara umum terdiri dari 2 cincin aromatik A dan B dihubungkan dengan beberapa kombinasi gugus substituen. Cincin A memiliki dua gugus substituen hidroksi pada posisi meta yang berasal dari jalur biosintesis asam mevalonat, sedangkan cincin B memiliki gugus substituen hidroksi dan metoksi pada posisi orto, meta, dan para yang berasal dari jalur biosintesis asam shikimat (Chong *et al.*, 2009). Adapun struktur umum senyawa stilben adalah sebagai berikut:

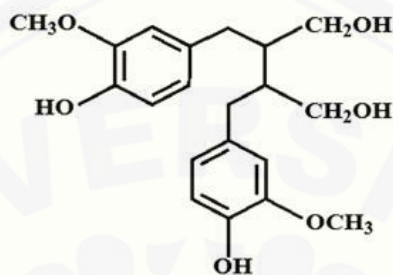


Gambar 2.4 Struktur umum stilben ( Pandey & Rizvi, 2009)

#### d. Lignan

Lignan merupakan salah satu kelompok senyawa polifenol yang berasal dari 2 unit fenil propanoid yang dihubungkan oleh 2 rantai samping karbon membentuk ikatan 8-8'. Fenil propanoid merupakan senyawa fenol yang memiliki cincin aromatik dengan rantai samping terdiri dari 3 atom karbon. Senyawa hasil penggabungan 2 unit

fenil propanoid tanpa membentuk ikatan 8-8' termasuk ke dalam golongan neolignan, sedangkan senyawa yang terbentuk dari penggabungan 2 unit fenil propanoid melalui atom O termasuk golongan oxineolignan (Bruneton, 1999). Adapun struktur umum senyawa lignan adalah sebagai berikut:



Gambar 2.5 Struktur umum lignan ( Pandey & Rizvi, 2009)

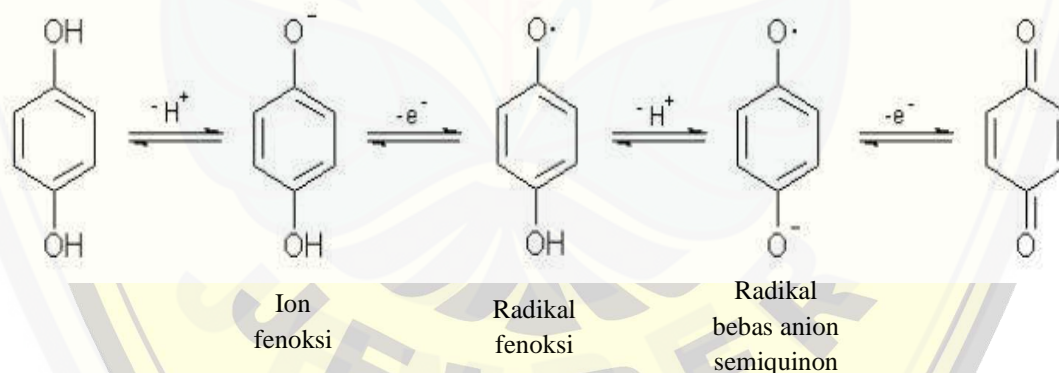
#### 2.4 Stres Oksidatif

Secara alamiah tubuh manusia memproduksi senyawa antioksidan yang berfungsi melindungi sel dari senyawa radikal bebas. Adapun beberapa antioksidan alami yang ada dalam tubuh, antara lain superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), katalase (CAT), dan glutathion-S-transferase (GST). Jika produksi senyawa radikal dalam tubuh terus meningkat akibat pengaruh perubahan gaya hidup, hal ini memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan keadaan dimana jumlah senyawa radikal bebas berada dalam tubuh melebihi kapasitas normal, sehingga sistem pertahanan tubuh tidak akan efektif melindungi sel dari serangan radikal bebas. Senyawa radikal bebas yang berlebihan dapat melewati membran plasma, merusak sel membran melalui mekanisme peroksidasi lemak, memodifikasi sinyal, dan protein struktural menyebabkan salah pelipatan (folding), agregasi, dan mengganggu proses transkripsi asam deoksiribosa nukleat (ADN) atau asam ribosa nukleat (ARN) serta mutasi gen (Li *et al.*, 2013). Oleh sebab itu, perlu tambahan senyawa antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh seperti suplemen makanan. Suplemen makanan yang mengandung senyawa antioksidan mampu merangsang

sistem pertahanan endogen tubuh terhadap reaksi peroksidasi berantai yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Patel *et al.*, 2012). ROS merupakan senyawa radikal bebas atom atau molekul yang tidak stabil, disebabkan adanya elektron tidak berpasangan dalam orbital luarnya. Hal ini menyebabkan atom maupun molekul menjadi sangat reaktif, sehingga untuk mendapatkan pasangan elektron diperoleh dengan cara mengikat sel-sel tubuh. Jika hal ini berlangsung secara terus menerus, maka dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Halliwell, 2012).

## 2.5 Manfaat Senyawa Polifenol Terhadap Kesehatan

Sekelompok senyawa fenolik bertindak sebagai gugus penerima elektron dalam membentuk senyawa radikal fenoksil. Senyawa radikal fenoksil lebih stabil dan tidak reaktif, disebabkan adanya resonansi ikatan rangkap terkonjugasi (Kehrer *et al.*, 1994). Adapun mekanisme reaksi pembentukan resonansi ikatan rangkap senyawa radikal fenoksil adalah sebagai berikut:



Gambar 2.6 Pembentukan senyawa radikal fenoksil (Becker *et al.*, 1999)

Senyawa polifenol dapat mencegah terjadinya aterosklerosis yang disebabkan peningkatan kadar LDL dalam plasma. Senyawa polifenol secara kompetitif menghambat reaksi oksidasi LDL dengan membentuk ikatan reversibel. Reaksi oksidasi LDL menghasilkan senyawa LDL-oks yang mudah menempel dan menumpuk pada dinding pembuluh darah, sehingga mengakibatkan peradangan



kronis pada arteri (Aviram *et al.*, 2000). Senyawa polifenol bersifat sebagai antikanker dengan cara menurunkan tingkat kerusakan oksidatif ADN yang disebabkan oleh penggunaan obat-obatan sitotoksik. Kerusakan oksidatif ADN bersifat menguntungkan apabila didesain untuk memberikan efek apoptosis pada sel-sel tumor, namun bersifat merugikan apabila menyerang pada sel-sel normal (Lampe, 1999). Senyawa polifenol juga mampu mencegah kerusakan oksidatif saraf yang disebabkan senyawa radikal bebas di dalam mitokondria. Senyawa polifenol bersifat antioksidan yang dapat meningkatkan sekresi enzim superoksida dismutase (Levites *et al.*, 2001) dan memulihkan neurotransmisi dopamin pada tikus yang diinduksi dengan metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) (Levites *et al.*, 2002). Senyawa polifenol memiliki kemampuan melindungi sel  $\beta$  pankreas dari reaksi peroksidasi berantai yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Patel *et al.*, 2012).

## 2.6 Manfaat Senyawa Flavonoid Terhadap Kesehatan

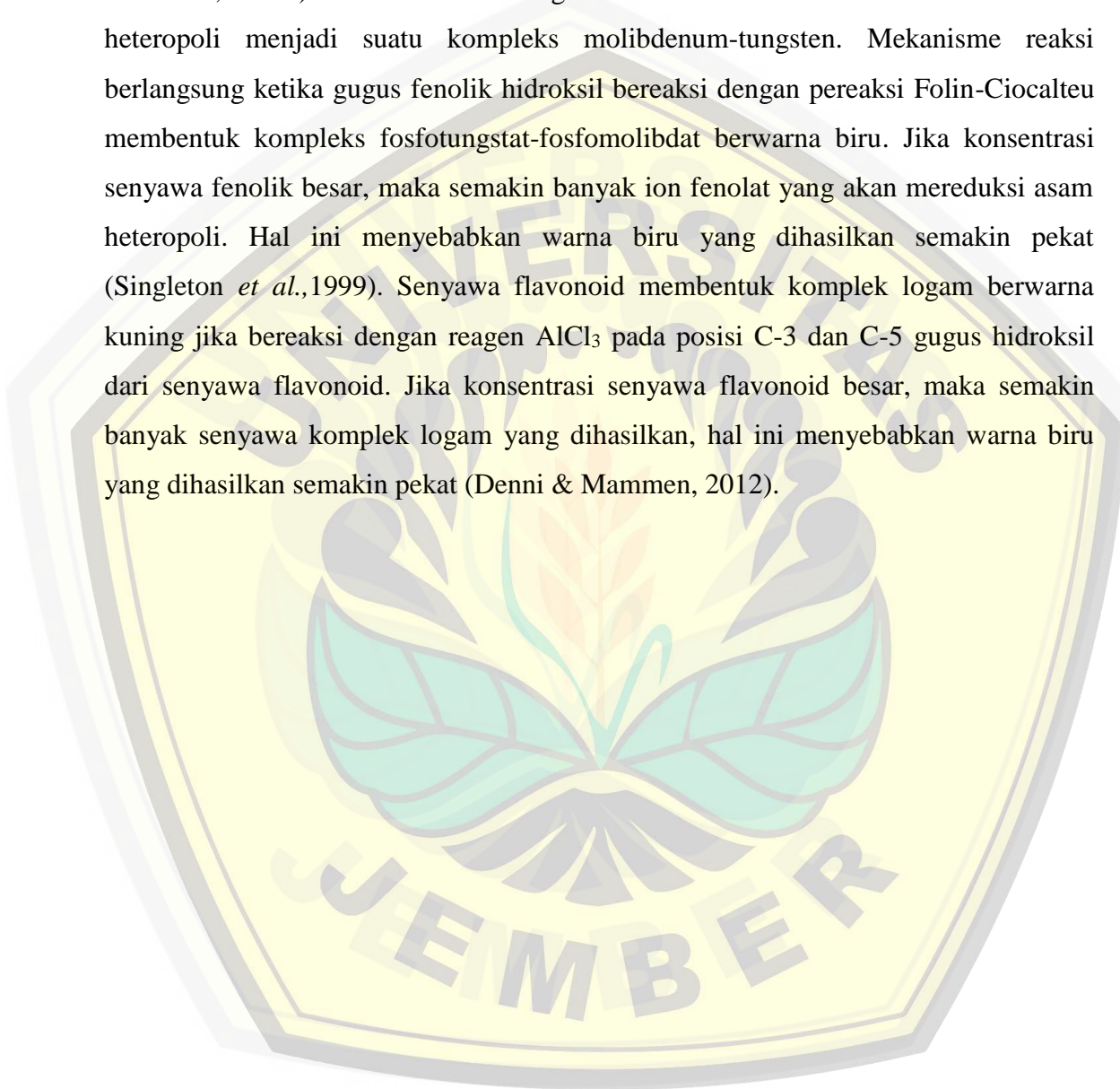
Senyawa flavonoid memiliki peran sebagai agen antikanker dengan berbagai macam cara, antara lain: memblokir pada tahap inisiasi, mempengaruhi metabolisme senyawa prokarsinogen dengan cara memodulasi enzim sitokrom P450 dalam mengaktivasi senyawa karsinogen, dan detoksifikasi senyawa beracun dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh terhadap senyawa xenobiotik (Talalay *et al.*, 1988). Senyawa flavonoid bersifat sebagai antioksidan disebabkan senyawa 3,4-dihidoksi benzena pada posisi cincin B dan kelompok OH pada posisi 3 dari cincin AC (Heijnen *et al.*, 2002). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai anti osteoporosis disebabkan strukturnya mirip dengan hormon estradiol, sehingga berpotensi untuk berinteraksi dengan reseptor estrogenik dalam tubuh (Morito *et al.*, 2002). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi dengan cara menghambat pembentukan *Nuclear Factor Kappa B* (NF $\kappa$ B) yang disebabkan oleh

senyawa radikal bebas (Williams *et al.*, 2004). Senyawa flavonoid mampu menghambat xantin dehidrogenase yang dapat menurunkan cedera oksidatif akibat iskemia (Zhu *et al.*, 2004), dan mengurangi tingkat oksidasi LDL dengan cara menghambat neutrofil myeloperoksidase, sehingga memiliki potensi mengurangi risiko penyakit jantung, aterosklerosis (Loke *et al.*, 2008). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase disebabkan adanya gugus 3',4'-dihidroksi pada cincin B yang berinteraksi dengan sisi aktif dari enzim  $\alpha$ -glukosidase, sedangkan gugus 3-OH pada cincin C mampu mempertahankan ikatan molekul flavonoid pada substrat (Xu, 2010).

## 2.7 Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri Uv-Vis merupakan pengukuran serapan cahaya radiasi elektromagnetik dengan molekul senyawa kimia tertentu pada kisaran panjang gelombang 200-800 nm (Glasston, 1960). Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimal. Hal ini disebabkan absorbansi maksimal memiliki kepekaan tinggi dan daya serap relatif konstan. Syarat utama senyawa yang dapat dideteksi dengan spektrofotometri Uv-Vis harus memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom (Skoog & West, 1971). Gugus kromofor merupakan gugus fungsi yang mempunyai spektrum absorpsi pada daerah ultraviolet atau sinar tampak. Gugus kromofor mengandung ikatan kovalen tidak jenuh, seperti: C=C, C=O, dan N=O. Gugus auksokrom merupakan gugus yang dapat meningkatkan absorpsi dari suatu molekul. Gugus ini tidak memiliki pengaruh terhadap absorpsi molekul pada daerah ultraviolet atau sinar tampak. Namun, gugus ini dapat mempengaruhi absorpsi molekul di posisi gugus tersebut terikat. Adapun contoh gugus auksokrom adalah sebagai berikut: OH, OR, dan NHR (Pecsok *et al.*, 1976).

Pereaksi Folin-Ciocalteu merupakan larutan kompleks ion polimerik produk reaksi antara asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfotungstat (Folin & Ciocalteu, 1927). Pereaksi ini mengoksidasi ion fenolat dan mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Mekanisme reaksi berlangsung ketika gugus fenolik hidroksil bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru. Jika konsentrasi senyawa fenolik besar, maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli. Hal ini menyebabkan warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton *et al.*, 1999). Senyawa flavonoid membentuk kompleks logam berwarna kuning jika bereaksi dengan reagen  $AlCl_3$  pada posisi C-3 dan C-5 gugus hidroksil dari senyawa flavonoid. Jika konsentrasi senyawa flavonoid besar, maka semakin banyak senyawa kompleks logam yang dihasilkan, hal ini menyebabkan warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Denni & Mammen, 2012).



### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *experimental laboratories* untuk mengetahui kadar fenolik total dan flavonoid total dari fraksi etil asetat buah kenitu varian hijau bulat besar (BB), hijau bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL), dan ungu (U) yang diambil dari daerah Jember dan sekitarnya.

#### 3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Instrumen Bagian Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan September 2015 sampai Oktober 2016.

#### 3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah fraksi etil asetat buah kenitu varian hijau bulat besar (BB), hijau bulat kecil (BK), hijau lonjong (HL), dan ungu (U).
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar fenolik total dan flavonoid total.
- c. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, metode fraksinasi, pelarut, dan prosedur penetapan kadar fenolik total serta flavonoid total.

### 3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Lokasi pengambilan sampel buah kenitu varian BB di daerah Mangli, Kabupaten Jember, buah kenitu varian BK di daerah Sumber Jambe, Kabupaten Jember, buah kenitu varian HL di daerah Kedung Jajang, Kabupaten Lumajang, dan buah kenitu varian U di daerah Klakah, Kabupaten Lumajang. Buah kenitu yang dipilih adalah buah yang sudah masak, yakni berwarna mengkilap pada kulit buahnya hijau kekuningan, hijau keunguan sampai ungu.
- b. Fraksi etil asetat buah kenitu diperoleh dari proses ekstraksi serbuk simplisia buah kenitu kering dengan tehnik *freeze drying* menggunakan pelarut metanol secara ultrasonikasi selama 2 jam, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat.
- c. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam mg/g ekivalen asam galat (mg GAE/g) dan kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg/g ekivalen kuersetin (mg QE/g).

### 3.5 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.5.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kenitu masak varian BB, BK, HL, dan U diperoleh dari daerah Jember dan sekitarnya yang dikumpulkan selama bulan September sampai Oktober 2015. Pelarut metanol 96%, *n*-heksana, etil asetat, akuades, natrium karbonat (Brataco-Ermika), kuersetin, dan asam galat diperoleh dari Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), etanol p.a, reagen Folin-Ciocalteu dan  $\text{AlCl}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany).

### 3.5.2 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), *hotplate* (Cimarec Thermo Scientific), neraca analitik (Pioneer), *vortex mixer* (Barnstead Termolyne), *freeze dryer* (VaCo 5-II-D), ultrasonikator (Elmasonic S180H), lemari asam (Chemfree), dan spektrofotometer Uv-Vis (Hitachi U 1800).

## 3.6 Cara Kerja

### 3.6.1 Penyiapan Simplisia

Buah kenitu berbagai varian (BB, BK, HL, dan U) yang telah dikumpulkan dikelompokkan berdasarkan masing-masing varian. Buah tersebut kemudian disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya buah dikukus selama 15 menit (dihitung setelah mendidih), hal ini dilakukan untuk mendenaturasi enzim polifenol oksidase. Enzim polifenol oksidase dapat mengoksidasi senyawa fenolik pada buah (Othman *et al.*, 2012). Kemudian, didinginkan pada suhu kamar dan dikerok daging buahnya, lalu dihaluskan menggunakan blender selama 10 menit dan selajutnya dikeringkan dengan tehnik *freeze drying*. Daging buah yang sudah kering, dikumpulkan, dan dihaluskan kembali menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

### 3.6.2 Ekstraksi

Sebanyak 50 gram simplisia kering dari masing-masing varian daging buah kenitu diekstraksi menggunakan metanol sebanyak 300 mL dengan cara ultrasonikasi selama 2 jam pada suhu 40°C. Ampas dan filtrat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan penyaring vakum. Kemudian, ampas kembali diekstraksi menggunakan

metanol 300 mL selama 2 jam pada suhu 40°C. Filtrat yang diperoleh diuapkan pada *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga menjadi ekstrak kental.

### 3.6.3 Fraksinasi

Sebanyak 35 gram ekstrak metanol dilarutkan dalam akuades (1:10) pada suhu kamar, kemudian disaring menggunakan kertas saring, dan filtrat ditampung. Filtrat ditambahkan *n*-heksana dengan volume yang sama banyak ke dalam corong pisah. Campuran digojog selama 15 menit, lalu dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan terpisah yaitu fraksi air dan fraksi *n*-heksana. Penambahan *n*-heksana dan penggojogan diulang sebanyak tiga kali.

Fraksi air kemudian ditambahkan dengan etil asetat dengan volume yang sama banyak ke dalam corong pisah dan digojog selama 15 menit hingga membentuk dua lapisan. Penambahan etil asetat dan penggojogan diulang sebanyak 3 kali. Fraksi etil asetat dikumpulkan, kemudian dipekatkan dengan cara didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam dalam lemari asam.

### 3.6.4 Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total di dalam fraksi etil asetat menggunakan metode kolorimetri dengan reagen Folin-Ciocalteu dengan sedikit modifikasi (Ningsih *et al.*, 2015). Adapun prosedur penetapan kadar fenolik, yaitu:

a. Pembuatan standar larutan asam galat

Ditimbang 7,5 mg asam galat dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 25 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 300 µg/mL. Kemudian larutan induk 300 µg/mL diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 30, 60, 90, 120, 150, dan 180 µg/mL.

b. Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 12,5 mg fraksi etil asetat dilarutkan dengan akuades 5 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan 2500  $\mu\text{g/mL}$ .

c. Penentuan panjang gelombang maksimal

Sebanyak 0,5 mL larutan standar dicampur dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v akuades) dan 4 mL natrium karbonat (75 g/L akuades). Kemudian campuran dikocok selama 15 detik dan didiamkan pada 40°C selama 30 menit hingga warnanya berubah. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 500 sampai 800 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimal. Absorbansi tertinggi yang merupakan titik puncak spektra digunakan sebagai panjang gelombang maksimal.

d. Pembuatan kurva kalibrasi

Sebanyak 0,5 mL larutan standar dengan berbagai konsentrasi dicampur dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v akuades) dan 4 mL natrium karbonat (75 g/L akuades). Kemudian campuran dikocok selama 15 detik dan didiamkan pada 40°C selama 30 menit hingga warnanya berubah. Selanjutnya, absorbansi campuran dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal (762 nm). Kandungan fenolik total dinyatakan dalam mg/g ekuivalen asam galat.

e. Pengujian fenolik total

Sebanyak 0,5 mL larutan sampel dicampur dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v akuades) dan 4 mL natrium karbonat (75 g/L akuades). Kemudian campuran dikocok selama 15 detik dan didiamkan pada 40°C selama 30 menit hingga warnanya berubah. Selanjutnya, absorbansi campuran dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal (762 nm). Kandungan fenolik total dinyatakan dalam mg/g ekuivalen asam galat.



### 3.6.5 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dalam fraksi etil asetat menggunakan metode kolorimetri dengan reagen  $\text{AlCl}_3$  dengan sedikit modifikasi (Ningsih *et al.*, 2015). Adapun prosedur penetapan kadar flavonoid adalah sebagai berikut:

a. Pembuatan standar kuersetin

Ditimbang 7,5 mg kuersetin dan dilarutkan dalam etanol p.a dalam labu ukur 25 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 300  $\mu\text{g/mL}$ . Kemudian larutan 300  $\mu\text{g/mL}$  diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 1,5; 3; 6; 9; 12; dan 15  $\mu\text{g/mL}$ .

b. Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 15 mg fraksi etil asetat dan dilarutkan dalam etanol p.a 5 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan 3000  $\mu\text{g/mL}$ .

c. Penentuan panjang gelombang maksimal

Sebanyak 1 mL larutan standar dicampur dengan 1 mL reagen  $\text{AlCl}_3$  (2% v/v etanol p.a) dan didiamkan selama 60 menit. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 200 sampai 500 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimal. Absorbansi tertinggi yang merupakan titik puncak spektra digunakan sebagai panjang gelombang maksimal.

d. Pembuatan kurva kalibrasi

Sebanyak 1 mL larutan standar berbagai konsentrasi dicampur dengan 1 mL reagen  $\text{AlCl}_3$  (2% v/v etanol p.a) dan didiamkan selama 60 menit. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Selanjutnya absorbansi campuran dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal (423,5 nm). Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg/g ekuivalen kuersetin.

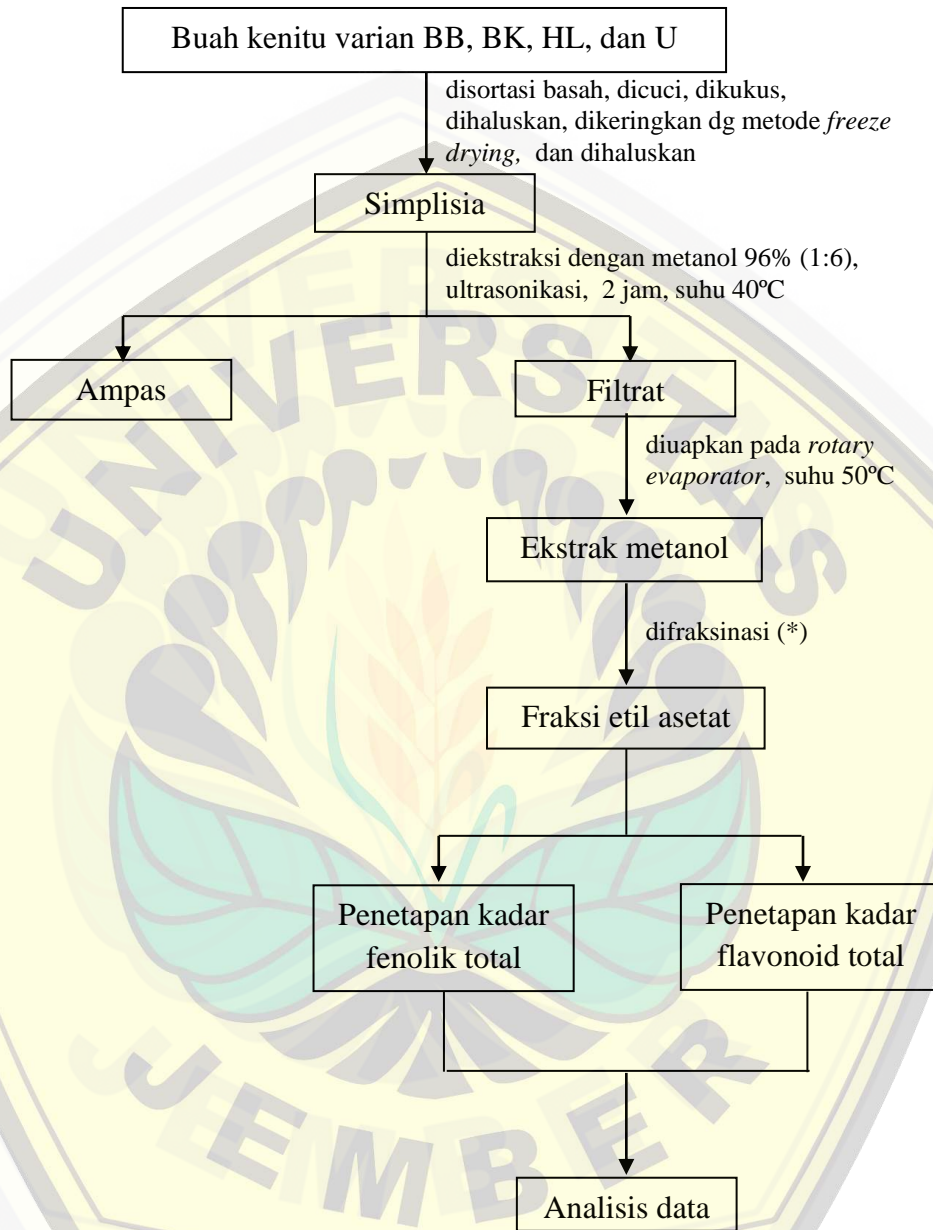
e. Pengujian flavonoid total

Sebanyak 1 mL ekstrak larutan sampel dicampur dengan 1 mL reagen  $\text{AlCl}_3$  (2% v/v etanol p.a) dan didiamkan selama 60 menit. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Selanjutnya absorbansi campuran dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal (423,5 nm). Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg/g ekivalen kuersetin.

### 3.7 Analisis Data

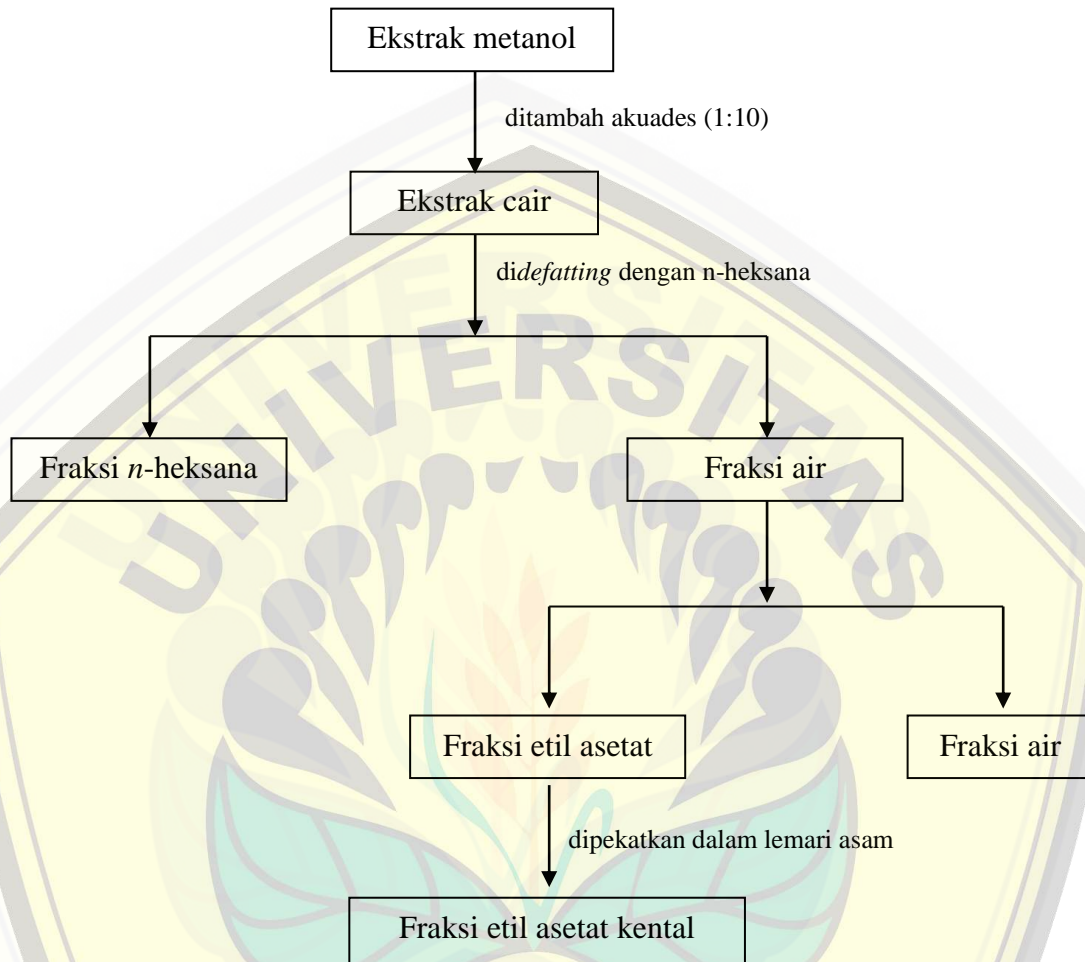
Data nilai kadar fenolik dan flavonoid yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA satu arah dengan melihat uji normalitas (*Shapiro-wilk*) dan uji homogenitas. Jika dihasilkan data normal dan homogen ( $p > 0,01$ ), maka dilanjutkan uji keseragaman satu arah untuk melihat perbedaan kadar fenolik dan flavonoid total antarvarian BB, BK, HL, dan U. Apabila berdasarkan uji ANOVA satu arah diperoleh hasil yang berbeda signifikan diantara sampel (nilai  $p < 0,01$ ), maka dilakukan analisis *post-hoc* menggunakan metode *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui varian mana yang berbeda signifikan. Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*. Selain itu, dilakukan juga analisis korelasi *Pearson* untuk melihat keeratan hubungan antara peningkatan kadar fenolik total terhadap kadar flavonoid total dengan syarat data yang diuji harus terdistribusi normal. Jika distribusi data tidak normal, maka dilakukan transformasi dan apabila transformasi tidak berhasil maka dilanjutkan uji korelasi *Spearman* (Besral, 2010).

### 3.8 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema uji penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total

(\*) Fraksinasi yang dilakukan sesuai Gambar 3.1



Gambar 3.2 Skema fraksinasi ekstrak buah kenitu

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan fenolik total fraksi etil asetat berturut-turut dari tertinggi sampai terendah, yaitu: varian hijau lonjong sebesar  $1.327,044 \pm 1,935$  mg GAE/g fraksi, varian bulat kecil sebesar  $845,710 \pm 2,534$  mg GAE/g fraksi, varian ungu sebesar  $382,533 \pm 2,534$  mg GAE/g fraksi, dan varian bulat besar sebesar  $279,087 \pm 2,737$  mg GAE/g fraksi.
2. Kandungan flavonoid total fraksi etil asetat berturut-turut dari tertinggi sampai terendah, yaitu: varian hijau lonjong sebesar  $9,597 \pm 0,043$  mg QE/g fraksi, varian bulat kecil sebesar  $2,806 \pm 0,063$  mg QE/g fraksi, varian ungu sebesar  $1,917 \pm 0,041$  mg QE/g fraksi, dan varian bulat besar sebesar  $1,118 \pm 0,052$  mg QE/g fraksi.
3. Hubungan kadar fenolik total terhadap kadar flavonoid total menunjukkan korelasi yang positif dengan kekuatan keamatan hubungan yang tinggi ( $R=0,931$ ).

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan uji lanjut untuk mengetahui hubungan antara lokasi tumbuh pohon kenitu terhadap jumlah kadar fenolik dan flavonoid, serta aktivitas biologis dari fraksi etil asetat buah kenitu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. 1985. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Allard, R.W. 2005. *Principles of Plant Breeding*. New York: John Wiley and Sons, Ltd.
- Aron, P. M., & Kennedy, J. A. 2008. Flavan-3-ols: Nature, Occurrence and Biological Activity. *Mol Nutr Food Res*. Vol 52: 79-104.
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., & Coleman, R. 2000. Pomegranate Juice Consumption Reduces Oxidative Stress, Atherogenic Modifications to LDL, and Platelet Aggregation: Studies in Humans and in Atherosclerotic Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Am J Clin Nutr*. Vol 71: 1062–1076.
- Becker, H., Berger W., Domschke, G., & Fanghänel, E. 1999. *Advanced Organic Chemistry*. Wiley-Interscience.
- Besral. 2010. *Pengelolaan dan Analisis Data I Menggunakan SPSS*. Depok: Departemen Biostatistika Fakultas Kesehatan Masyarakat.
- Bruneton, J. 1999. *Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes Médicinales*. Paris: Tec and Dog.
- Chong, J. Poutaraud, A., & Huguency, P. 2009. Metabolism and Roles of Stilbenes in Plants. *Plant Sci*. Vol 177: 143-155.
- Clifford, M., & Scalbert, A. 2000. Ellagitannins-nature, Occurrence and Dietary Burden. *J Food Sci Agric*. Vol 80: 1118–1125.

- Croniezer, A., Clifford, M., & Ashihara, H. 2006. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Australia: Blackwell Publishing, Ltd.
- Denni, M., & Mammen, D. 2012. A Critical Evaluation on the Reliability of Two Aluminium Chloride Chelation Methods for Quantification of Flavonoids. *Food Chem.* Vol 135: 1365–1368.
- Depkes, RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Einbond, L. S., Reynertson, K. A., Luo, X. D., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. 2004. Anthocyanin Antioxidants from Edible Fruits. *Food Chem.* Vol 84: 23–28.
- Folin, O., & Ciocalteu, V. 1927. On Tyrosine and Tryptophane Determinations in Proteins. *J Biol Chem.* Vol 73(2): 627–648.
- Glasston, S. 1960. *Textbook of Physical Chemistry 2<sup>nd</sup> Ed.* London: Macmillan and Co. Ltd.
- Halliwell, B. 2012. Free Radicals and Antioxidants: Updating a Personal View. *Nutr Rev.* Vol 70(5): 257-265.
- Harborne, J. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide To Modern Techniques of Plant Analysis*. New York: Chapman and Hall.
- Haslan, E. 1998. *Practical Polyphenols: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action*. Cambridge University Press: Cambridge, UK.
- Heijnen, C. G. M., Haenen, G. R. M., Oostveen, R. M., Stalpers, E. M., & Bast, A. 2002. Protection of Flavonoids Against Lipid Peroxidation: The Structure Activity Relationship Revisited. *Free Radic Res.* Vol 36(5): 575–581.

- Hidayat, M. A., Umiyah, & Ulva, E. U. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Berk Panel Hayati*. Vol 13: 45-50.
- ITIS. (2016). *Chrysophyllum cainito*:[http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=23811](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=23811). [16 Januari 2016].
- Jumin, H.B. 1989. *Ekologi Tanaman: Suatu Pendekatan Fisiologis*. Jakarta: Rajawali Press.
- Kaur, J. 2014. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiol Res Prac*. Vol 2014: 1-21.
- Kehrer, J., & Smith, C. 1994. *Free Radicals in Biology: Sources, Reactivities, and Roles in the Etiology of Human Diseases In: Natural Antioxidants*. San Diego: Academic Press.
- Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. 2011. Phytochemicals, Vitamin C and Sugar Content of Thai Wild Fruits. *Food Chem*. Vol 126: 972–981.
- Lakitan, B. 2012. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Rajawali Press.
- Lampe, J. W. 1999. Health Effects of Vegetables and Fruit: Assessing Mechanisms of Action in Human Experimental Studies. *Am J Clin Nutr*. Vol 70(3): 475–490.
- Lazarus, S. A., & Schmitz, H.H. 2000. Dietary Flavonoids May Promote Health, Prevent Heart Disease. *Calif Agr*. Vol 54(5): 33-39.
- Levites, Y., Weinreb, O., Maor, G., Youdim, M., & Mandel, S. 2001. Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Prevents *N*-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine-Induced Dopaminergic Neurodegeneration. *J Neurochem*. Vol 78: 1073–1082.



- Levites, Y., Amit, T., Youdim, M., & Mandel, S. 2002. Involvement of Protein Kinase C Activation and Cell Survival/Cell Cycle Genes in Green Tea Polyphenol, (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Neuroprotective Action. *J Biol Chem*. Vol 277(34): 30574-30580.
- Li, J., Wuliji, O., Li, W., Jiang, Z., & Ghanbari, H. A. 2013. Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci*. Vol 14: 24438-24475.
- Lim, T. 2013. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Vol 6, Fruits*. New York: Springer.
- Loke, W. M., Proudfoot, J. M., & McKinley, A. L., Needs, P. W., & Kroon, P. A. 2008. Quercetin and Its In Vivo Metabolites Inhibit Neutrophil-Mediated Low-Density Lipoprotein Oxidation. *J Agric Food Chem*. Vol 56: 3609–3615.
- Luo, X. D., Basile, M. J., & Kennely, E. J. 2002. Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *J Agr Food Chem*. Vol 50(6): 1379-1382.
- Lutsey, P., Steffen, L. M., & Stevens, J. 2008. Dietary Intake and the Development of the Metabolic Syndrome: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*. Vol 117: 754–761.
- Morito, K., Aomori, T., Hirose, T., Kinjo, J., Hasegawa, J. 2002. Interaction of Phytoestrogens With Estrogen Receptors  $\alpha$  and  $\beta$  (II). *Biol Pharm Bull*. Vol 25(1) : 48–52
- Muller, E., Berger, R., Blass, E., Sluyts, D., & Pfennig, A. 2012. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. *Liquid-Liquid Extraction*. Vol 21: 250-303

- Ncube, N. S., Afolayan, A. J., & Okoh, A. I. 2008. Assessment Techniques of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plant Origin : Current Methods and Future Trends. *Aft J Biotechnol.* Vol 7(12): 1797-1806.
- Ningsih, I. Y., Fairuz, L., Puspitasari, E., Muslichah, Siti., & Hidayat, M. A. 2015. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.). *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis.* 35-45
- Othman, O. C. 2012. Polyphenoloxidase and Peroxidase Activity During Open Air Ripening Storage of Pineapple (*Ananas comusus* L.), Mango (*Mangifera indica*) and Papaya (*Carica papaya*) Fruits Grown in Dar Es Salaam Tanzania. *Tanz J Sci.* Vol 38(3): 84-94.
- Pandey, K. B. & Rizvi, S. I. 2009. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxid Med and Cell Long.* Vol 2(5): 270-278.
- Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D., & Hemalatha, S. 2012. Diabetes Mellitus: An Overview on Its Pharmacological Aspects and Reported Medicinal Plants Having Antidiabetic Activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 411-420.
- Pecsok, R., Shileds, L., Cairns, T., & Mcwilliam, I. 1976. *Modern Methods of Chemical Analysis 2<sup>nd</sup> Ed.* New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. 2009. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules.* Vol 14: 2202-2211.
- Pino, J., Marbot, R., & Rosado, A. 2002. Volatile Constituents of Star Apple (*Chrysophyllum cainito* L.) from Cuba. *Flavour Fragr J.* Vol 17: 401-403.
- Ribereau-Gayon, P. 1972. *Plant Phenolics.* Hafiner Publishing Company: New York.

- Sanches-Moreno, C. 2002. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Sci Technol Int*. Vol 8(3): 121-137.
- Santos-Acuin, C., Gepte, A., Troy, I., & Dedace, M. J. 1997. The Aetas of Morong, Bataan, Philippines. *Community Food Sourc J The Res Ins Trop Med, Manila*. Vol 42.
- Shian, T. E., Abdullah, A., Musa. K. H., Maskat, M. Y., & Ghani, M. A. 2012. Antioxidant Properties of Three Banana Cultivars (*Musa acuminata* 'Beregan', 'Mas' and 'Raja') Extracts. *Sains Malay*. Vol 41(3): 319-324.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Method Enzymol*. Vol 299: 152-178.
- Sitompul, S.M., & Guritno, B. 1995. Analisis Pertumbuhan Tanaman. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Skoog, D., & West, D. 1971. *Principles of Instrumental Analysis*. New York: Holt, Rinehart and Winston, Inc.
- Sofyan, M. D. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Polifenol dan Flavonoid Total Ekstrak Empat Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*). *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Suhaema, & Masthalina, H. 2015. Pola Konsumsi dengan Terjadinya Sindrom Metabolik di Indonesia. *Kesmas*. Vol 9(4): 340-347.
- Talalay, P., De Long, M. J., & Prochaska, H. J. 1988. Identification of a Common Chemical Signal Regulating the Induction of Enzymes that Protect Against Chemical Carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol 85: 8261-8265.

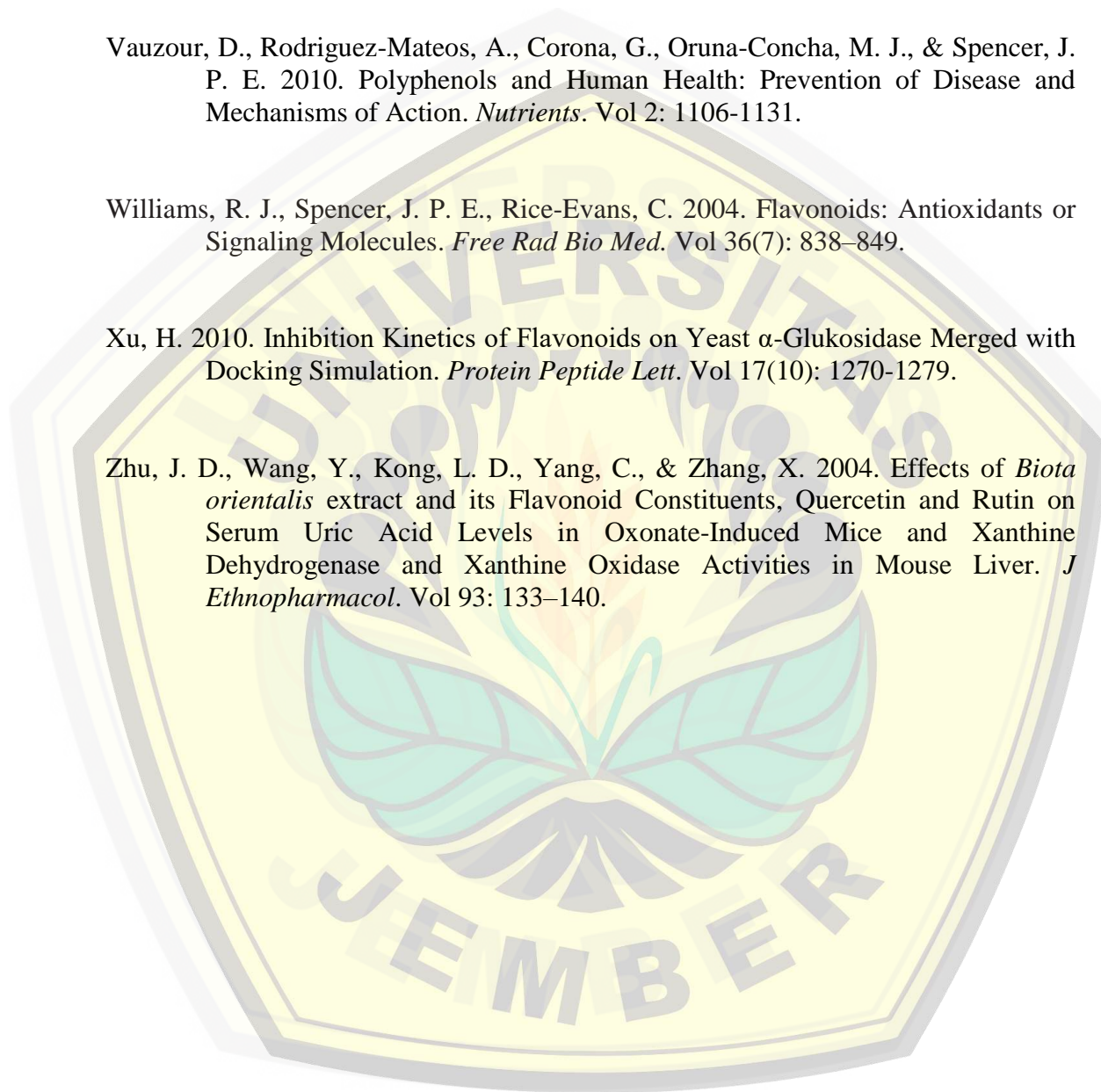
Thomas, G. 2007. *Medicinal Chemistry, Second Edition*. The University of Portsmouth, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J., & Spencer, J. P. E. 2010. Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action. *Nutrients*. Vol 2: 1106-1131.

Williams, R. J., Spencer, J. P. E., Rice-Evans, C. 2004. Flavonoids: Antioxidants or Signaling Molecules. *Free Rad Bio Med*. Vol 36(7): 838–849.

Xu, H. 2010. Inhibition Kinetics of Flavonoids on Yeast  $\alpha$ -Glukosidase Merged with Docking Simulation. *Protein Peptide Lett*. Vol 17(10): 1270-1279.

Zhu, J. D., Wang, Y., Kong, L. D., Yang, C., & Zhang, X. 2004. Effects of *Biota orientalis* extract and its Flavonoid Constituents, Quercetin and Rutin on Serum Uric Acid Levels in Oxonate-Induced Mice and Xanthine Dehydrogenase and Xanthine Oxidase Activities in Mouse Liver. *J Ethnopharmacol*. Vol 93: 133–140.



## LAMPIRAN

## LAMPIRAN A. Rendemen Ekstrak dan Fraksi dari Berbagai Varian Buah Kenitu

## A.1 Bobot Rendemen Ekstrak Buah Kenitu (%)

$$\% \text{ bobot rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Ekstrak BB} = \frac{43,36}{50} \times 100\% = 86,72 \%$$

$$\text{Ekstrak BK} = \frac{44,36}{50} \times 100\% = 88,72 \%$$

$$\text{Ekstrak HL} = \frac{36,23}{50} \times 100\% = 72,46 \%$$

$$\text{Ekstrak U} = \frac{47,35}{50} \times 100\% = 94,70 \%$$

## A.2 Bobot Rendemen Fraksi Buah Kenitu (%)

$$\% \text{ bobot rendemen} = \frac{\text{berat fraksi yang diperoleh}}{\text{berat ekstrak yang ditimbang}} \times 100\%$$

$$\text{Fraksi EtOAc BB} = \frac{1,12}{35} \times 100\% = 3,20 \%$$

$$\text{Fraksi EtOAc BK} = \frac{1,40}{35} \times 100\% = 4,00 \%$$

$$\text{Fraksi EtOAc HL} = \frac{0,91}{35} \times 100\% = 2,60 \%$$

$$\text{Fraksi EtOAc U} = \frac{1,47}{35} \times 100\% = 4,20 \%$$

## LAMPIRAN B. Perhitungan Konsentrasi Standar, Reagen, dan Sampel Uji

## B.1 Perhitungan Konsentrasi Standar Asam Galat (3x Replikasi)

$$\text{Baku induk } 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{7,5 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

Pengenceran:

$$30 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$60 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$90 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$120 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$150 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$180 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{3 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

## B.2 Perhitungan Konsentrasi Standar Kuersetin (3x Replikasi)

$$\text{Baku induk } 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{7,5 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

Pengenceran:

$$1,5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{25 \times 10^{-3} \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{50 \times 10^{-3} \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$6 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{100 \times 10^{-3} \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$9 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{150 \times 10^{-3} \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$12 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{200 \times 10^{-3} \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$15 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{250 \times 10^{-3} \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 300 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

**B.3 Pembuatan Larutan Folin-Ciocalteu**

10 mL reagen Folin-Ciocalteu diencerkan dengan akuades hingga 100 mL

**B.4 Pembuatan Larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%**

Ditimbang 7,5 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dilarutkan dalam akuades hingga 100 mL

**B.5 Pembuatan Larutan AlCl<sub>3</sub> 2%**

Ditimbang 1 g AlCl<sub>3</sub> dilarutkan dalam etanol p.a hingga 50 mL

**B.6 Pembuatan Sampel Uji Untuk Penetapan Kadar Fenolik Total**

Fraksi etil asetat dari varian BB, BK, HL, dan U (3x replikasi)

$$\frac{12,5 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 2500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

**B.7 Pembuatan Sampel Uji Untuk Penetapan Kadar Flavonoid Total**

Fraksi etil asetat dari varian BB, BK, HL, dan U (3x replikasi)

$$\frac{15 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 3000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

**LAMPIRAN C. Uji Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total****C.1 Uji Penetapan Kadar Fenolik Total (Ningsih *et al.*, 2015)**

Larutan uji 0,5 mL ditambah 5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Campuran dikocok selama 15 detik dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian absorbansi dibaca pada panjang gelombang 762 nm dengan spektrofotometri Uv-Vis.

Penelitian:

Pembuatan blanko negatif

0,5 mL akuades ditambah dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%

Persamaan kurva baku standar

Persamaan kurva baku standar yang diperoleh, yaitu  $y = 0,006x + 0,025$ . Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan nilai x atau kandungan total fenolik larutan sampel buah kenitu ekuivalen asam galat dengan memasukkan nilai absorbansi sampel buah kenitu ke dalam y. Adapun contoh perhitungan sebagai berikut:

$$y = 0,006x + 0,025$$

$$0,247 = 0,006x + 0,025$$

$$x = 37 \mu\text{g GAE/mL larutan residu}$$

Kemudian dapat ditentukan kandungan fenolik total per berat fraksi kental buah kenitu dengan cara sebagai berikut:

- 12,5 mg fraksi ditambah akuades sampai 5 mL (Larutan 1)
- 0,5 mL fraksi ditambah dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dalam vial (Larutan 2)



c. Misalkan hasil analisis yang diperoleh kadar fenolik total (nilai x) = 37 µg GAE/ml larutan residu, maka kadar fenolik total tiap gram fraksi, adalah:

1. Kadar fenolik total dalam larutan 2

$$\frac{9,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 37 \text{ µg GAE} = 351,5 \text{ µg GAE}$$

2. Kadar fenolik total dalam larutan 1

$$\frac{5 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times 351,5 \text{ µg GAE} = 3.515 \text{ µg GAE}$$

3. Kadar fenolik total dalam tiap gram fraksi

$$\frac{3.515 \text{ µg GAE}}{0,0125 \text{ g fraksi}} : 1000 = 281,200 \text{ mg GAE/g fraksi}$$

## C.2 Uji Penetapan Kadar Flavonoid Total (Ningsih *et al.*, 2015)

Larutan uji 1 mL ditambah 1 mL larutan AlCl<sub>3</sub> 2%, didiamkan selama 60 menit dan diamati pada panjang gelombang 423,5 nm dengan spektrofotometri Uv-Vis.

Penelitian :

Pembuatan blanko negatif

1 mL larutan etanol p.a ditambah dengan 1 mL larutan AlCl<sub>3</sub>

Persamaan kurva baku standar

Persamaan kurva baku standar yang diperoleh, yaitu  $y = 0,032x + 0,024$ . Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan nilai x atau kandungan total flavonoid larutan sampel buah kenitu ekuivalen kuersetin dengan memasukkan nilai absorbansi sampel buah kenitu ke dalam y.

Adapun contoh perhitungannya :

$$y = 0,032x + 0,024$$

$$0,075 = 0,032x + 0,024$$

$$x = 1,593 \text{ µg QE/mL larutan residu}$$

Kemudian dapat ditentukan kandungan flavonoid total per berat fraksi kental buah kenitu dengan cara sebagai berikut :

- a. 15 mg fraksi ditambah etanol p.a sampai 5 mL (Larutan 1)
- b. 1 mL larutan fraksi ditambah dengan 1 mL larutan  $\text{AlCl}_3$  dalam vial (Larutan 2)
- c. Misalkan hasil analisis yang diperoleh kadar flavonoid total (nilai x) = 1,593  $\mu\text{g}$  QE/ml larutan residu, maka kadar flavonoid total tiap gram fraksi, adalah:

1. Kadar flavonoid total dalam larutan 2

$$\frac{2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1,593 \mu\text{g QE} = 3,186 \mu\text{g QE}$$

2. Kadar flavonoid total dalam larutan 1

$$\frac{5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 3,186 \mu\text{g QE} = 15,930 \mu\text{g QE}$$

3. Kadar flavonoid total dalam tiap gram fraksi

$$\frac{15,930 \mu\text{g QE}}{0,015 \text{ g fraksi}} : 1000 = 1,063 \text{ mg QE/g fraksi}$$

### C.3 Perhitungan Simpangan Deviasi (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{(a-x)^2 + (b-x)^2 + \dots}{n-1}}$$

Adapun contoh perhitungan SD:

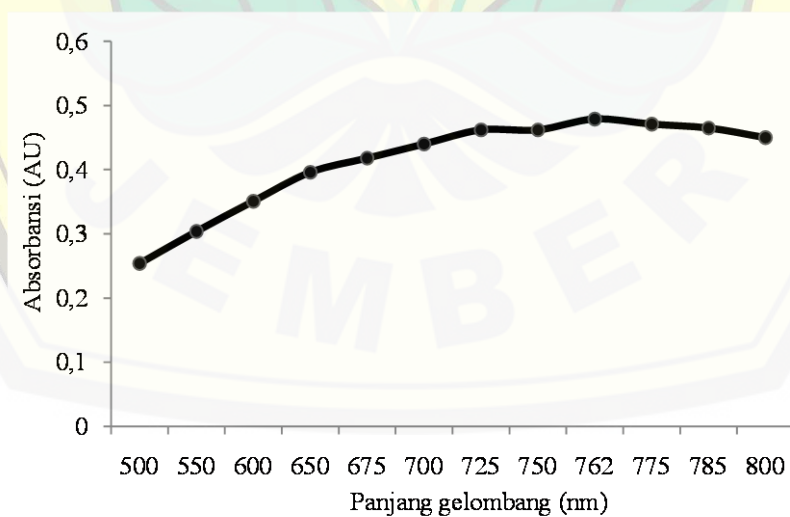
$$SD = \sqrt{\frac{(1,063 - 1,118)^2 + (1,125 - 1,118)^2 + (1,167 - 1,118)^2}{3-1}}$$

$$= 0,052$$

**LAMPIRAN D. Data Analisis Kadar Fenolik dan Flavonoid Total****D.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Asam Galat Pada Uji Fenolik Total**

Tabel D.1 Penentuan panjang gelombang maksimal asam galat pada uji fenolik total

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
500	0,254
550	0,304
600	0,351
650	0,396
675	0,418
700	0,440
725	0,462
750	0,462
762	0,479
775	0,471
785	0,465
800	0,450

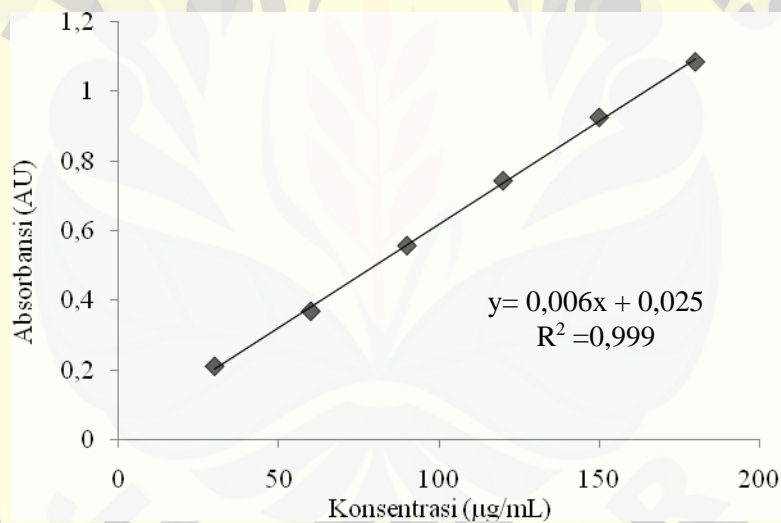


Gambar D.1 Penentuan panjang gelombang maksimal asam galat pada uji fenolik total

## D.2 Penentuan Kurva Baku Senyawa Fenolik

Tabel D.2 Hasil analisis kadar fenolik total menggunakan standar asam galat

Konsentrasi $\mu\text{g/mL}$	Absorbansi standar asam galat			Absorbansi rata-rata asam galat	SD
	R1	R2	R3		
30	0,211	0,209	0,210	0,210	0,001
60	0,369	0,372	0,365	0,368	0,003
90	0,556	0,559	0,553	0,556	0,003
120	0,740	0,744	0,743	0,742	0,002
150	0,925	0,927	0,920	0,924	0,003
180	1,084	1,085	1,08	1,083	0,002



Gambar D.2 Kurva baku senyawa fenolik menggunakan standar pembanding asam galat

### D.3 Penentuan Kadar Fenolik Total Berbagai Macam Varian Kenitu

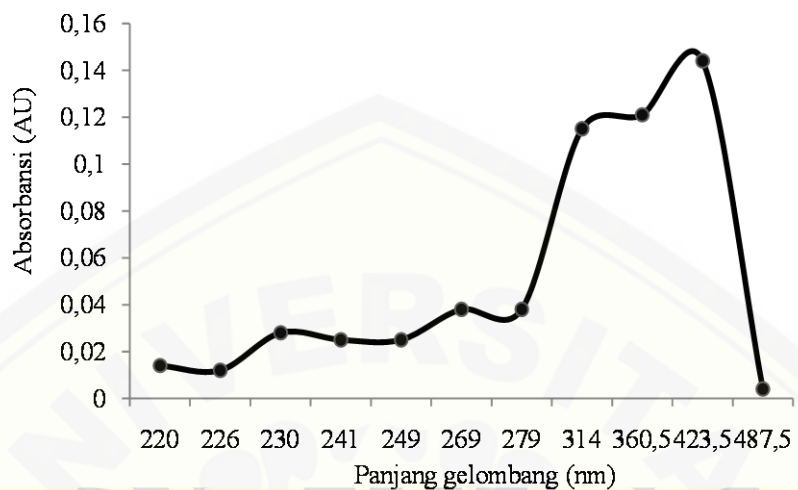
Tabel D.3 Hasil analisis kadar fenolik total berbagai macam varian buah kenitu

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi	Absorbansi	Kadar fenolik total (mg GAE/g fraksi)	Rata-rata kadar fenolik total (mg GAE/g fraksi) ± SD
BB	2.500	1	0,247	281,200	279,087 ± 2,737
	2.500	2	0,243	276,131	
	2.500	3	0,246	279,931	
BK	2.500	1	0,695	848,669	845,710 ± 2,534
	2.500	2	0,693	846,131	
	2.500	3	0,691	843,600	
HL	2.500	1	1,073	1.327,469	1.327,044 ± 1,935
	2.500	2	1,071	1.324,931	
	2.500	3	1,074	1.328,731	
U	2.500	1	0,325	380,000	382,533 ± 2,534
	2.500	2	0,329	385,069	
	2.500	3	0,327	382,531	

### D.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Kuersetin Pada Uji Flavonoid Total

Tabel D.4 Penentuan panjang gelombang maksimal kuersetin pada uji flavonoid total

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
220	0,014
226	0,012
230	0,028
241	0,025
249	0,025
269	0,038
279	0,038
314	0,115
360,5	0,121
423,5	0,144
487,5	0,004

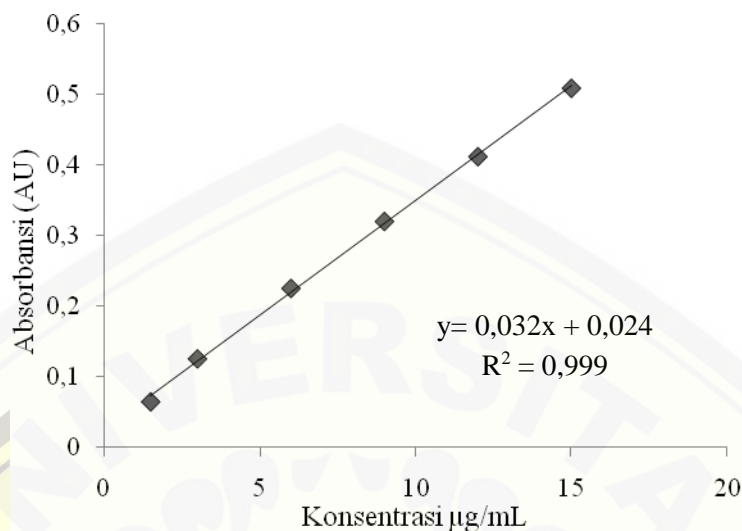


Gambar D.4 Penentuan panjang gelombang maksimal kuersetin pada uji flavonoid total

### D.5 Penentuan Kurva Baku Senyawa Flavonoid

Tabel D.5 Hasil analisis kadar flavonoid total menggunakan standar kuersetin

Konsentrasi µg/mL	Absorbansi standar kuersetin			Absorbansi rata-rata kuersetin	SD
	R1	R2	R3		
1,5	0,065	0,063	0,067	0,065	0,002
3	0,128	0,124	0,126	0,126	0,002
6	0,227	0,230	0,221	0,226	0,004
9	0,320	0,319	0,324	0,321	0,003
12	0,415	0,411	0,413	0,413	0,002
15	0,514	0,500	0,516	0,510	0,008



Gambar D.5 Kurva baku senyawa flavonoid menggunakan standar pembanding kuersertin

#### D.6 Penentuan Kadar Flavonoid Total Berbagai Macam Varian Kenitu

Tabel D.6 Hasil analisis kadar flavonoid total berbagai macam varian buah kenitu

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi	Absorbansi	Kadar flavonoid total (mg QE/g fraksi)	Rata-rata kadar flavonoid total (mg QE/g fraksi) ± SD
BB	3.000	1	0,075	1,063	1,118 ± 0,052
	3.000	2	0,078	1,125	
	3.000	3	0,08	1,167	
BK	3.000	1	0,158	2,792	2,806 ± 0,063
	3.000	2	0,156	2,750	
	3.000	3	0,162	2,875	
HL	3.000	1	0,483	9,563	9,597 ± 0,043
	3.000	2	0,487	9,645	
	3.000	3	0,484	9,583	
U	3.000	1	0,118	1,959	1,917 ± 0,041
	3.000	2	0,114	1,875	
	3.000	3	0,116	1,917	

**LAMPIRAN E. Hasil Uji One Way ANOVA**

**E.1 Uji Normalitas Senyawa Fenolik**

**Tests of Normality**

varian	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<b>Asam galat</b>	BB	.292	3	.923	3	.464
	BK	.175	3	1.000	3	.998
	HL	.254	3	.964	3	.634
	U	.175	3	1.000	3	.998

a. Lilliefors Significance Correction

**E.2 Uji Homogenitas Senyawa Fenolik**

**Test of Homogeneity of Variances**

Asam galat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.102	3	8	.956

**E.3 ANOVA Senyawa Fenolik**

**ANOVA**

Asam galat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2076565.647	3	692188.549	1.176E5	.000
Within Groups	47.101	8	5.888		
Total	2076612.748	11			



**E.4 Uji *Post Hoc* Senyawa Fenolik**

**Multiple Comparisons**

Asam galat  
LSD

(I) varian	(J) varian	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
BB	BK	-567.046000*	1.981186	.000	-573.69365	-560.39835
	HL	-1.047956E3*	1.981186	.000	-1054.60398	-1041.30869
	U	-103.446000*	1.981186	.000	-110.09365	-96.79835
BK	BB	567.046000*	1.981186	.000	560.39835	573.69365
	HL	-480.910333*	1.981186	.000	-487.55798	-474.26269
	U	463.600000*	1.981186	.000	456.95235	470.24765
HL	BB	1047.956333*	1.981186	.000	1041.30869	1054.60398
	BK	480.910333*	1.981186	.000	474.26269	487.55798
	U	944.510333*	1.981186	.000	937.86269	951.15798
U	BB	103.446000*	1.981186	.000	96.79835	110.09365
	BK	-463.600000*	1.981186	.000	-470.24765	-456.95235
	HL	-944.510333*	1.981186	.000	-951.15798	-937.86269

\*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

**E.5 Uji Normalitas Senyawa Flavonoid**

**Tests of Normality**

varian	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kuersetin BB	.221	3	.	.986	3	.773
BK	.252	3	.	.965	3	.643
HL	.292	3	.	.923	3	.463
U	.176	3	.	1.000	3	.987

a. Lilliefors Significance Correction

**E.6 Uji Homogenitas Senyawa Flavonoid**

**Test of Homogeneity of Variances**

Kuersetin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.844	3	8	.507

**E.7 ANOVA Senyawa Flavonoid**

**ANOVA**

Kuersetin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	699.737	3	233.246	8.804E3	.000
Within Groups	.212	8	.026		
Total	699.949	11			

**E.8 Uji Post Hoc Senyawa Flavonoid**

**Multiple Comparisons**

Kuersetin  
LSD

(I) varian	(J) varian	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
BB	BK	-7.139000*	.132902	.000	-7.58494	-6.69306
	HL	-19.948000*	.132902	.000	-20.39394	-19.50206
	U	-2.818667*	.132902	.000	-3.26460	-2.37273
BK	BB	7.139000*	.132902	.000	6.69306	7.58494
	HL	-12.809000*	.132902	.000	-13.25494	-12.36306
	U	4.320333*	.132902	.000	3.87440	4.76627
HL	BB	19.948000*	.132902	.000	19.50206	20.39394
	BK	12.809000*	.132902	.000	12.36306	13.25494
	U	17.129333*	.132902	.000	16.68340	17.57527
U	BB	2.818667*	.132902	.000	2.37273	3.26460
	BK	-4.320333*	.132902	.000	-4.76627	-3.87440
	HL	-17.129333*	.132902	.000	-17.57527	-16.68340

\*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

**E.9 Korelasi Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total**

		Kadar fenolik	Kadar flavonoid
Kadar fenolik	Pearson Correlation	1	.931
	Sig. (2-tailed)		.069
	N	4	4
Kadar flavonoid	Pearson Correlation	.931	1
	Sig. (2-tailed)	.069	
	N	4	4