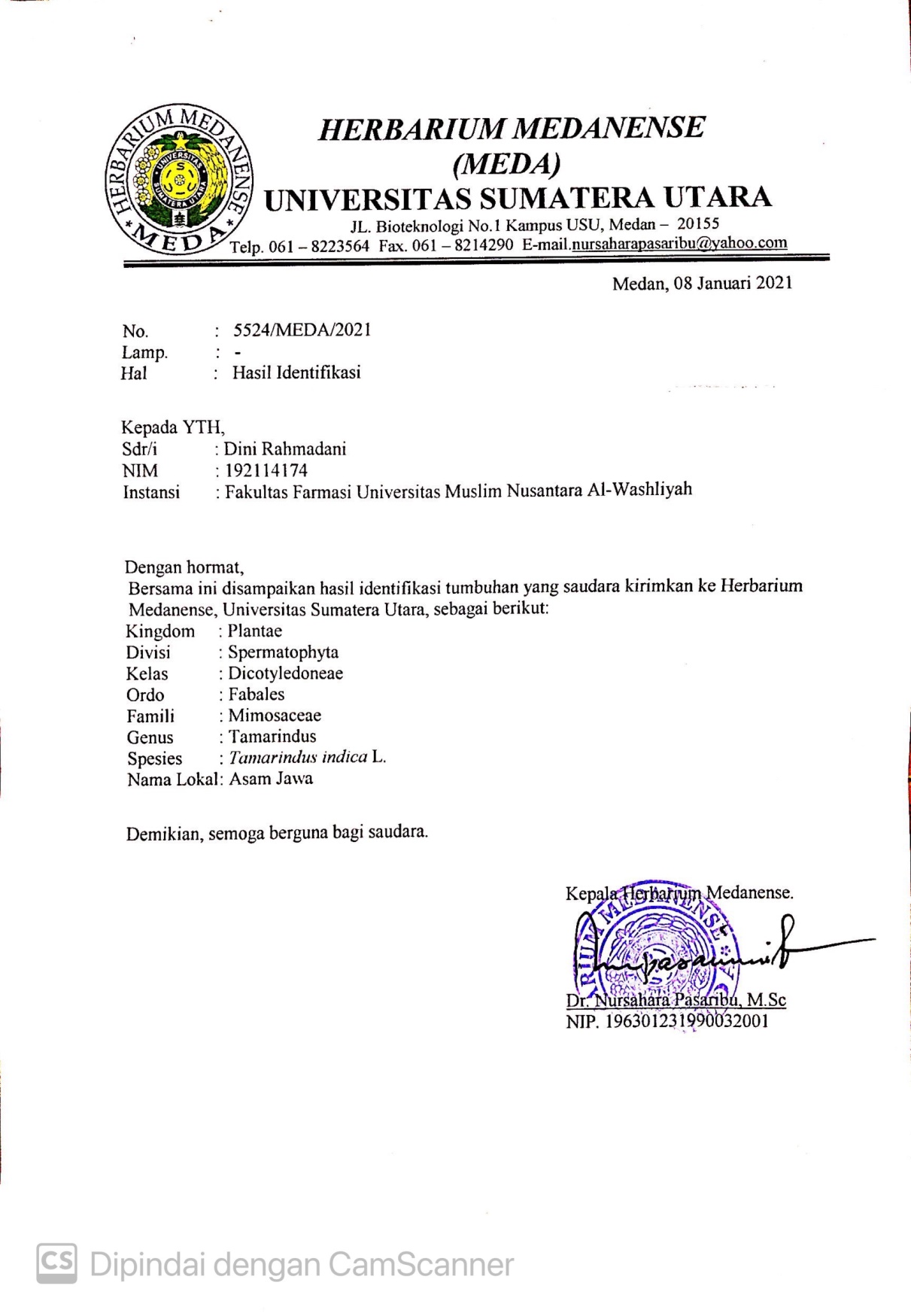
Lampiran 1. Hasil Identifikasi Tumbuhan Kulit Buah Asam Jawa



**Lampiran 2.** Bagan Alir Penelitian

Kulit buah asam jawa

Dikeringkan pada suhu 40˚C

Ditimbang

Simplisia kering

Dihaluskan

Ditimbang

Serbuk simplisia bungkecombrang

Diperkolasi dengan etanol 96%

Karakterisasi simplisia :

* Pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik
* Penetapan kadar air
* Penetapan kadar abu
* Penetepan kadar abu tidak larut asam
* Penetapan kadar sari larut dalam air
* Penetapan kadar sari larut dalam etanol

Ekstrak cair

Dipekatkan dengan alat rotary evaporator

Skrining fitokimia

* Alkaloid
* Flavonoid
* Steroid/triterpenoid
* Saponin
* Tanin
* Glikosida

Ekstrak kental

Fraksinasi

Ekstrak cair

Dipekatkan dengan alat rotary evaporator

Uji aktivitas antioksidan

Ekstrak kental

IC50

Lampiran 3. Proses Penyiapan Sampel Uji

Tumbuhan Asam Jawa Buah dan Daun Asam Jawa

Simplisia Kulit Buah Asam Jawa Serbuk Kulit Buah Asam Jawa



Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam

Lampiran 4. Bagan Alir Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Jawa

Ekstrak etanol kulit buah asam jawa (15 g)

Ditambahkan 100 mL etanol

Dilarutkan dengan 100 mL aquades

Difraksinasi dengan 200 mL

*n*-heksana sebanyak 3 kali

Lapisan *n*-heksana

Diuapkan

Diperoleh ekstrak

1,2123 g

Lapisan air

Difraksinasi dengan 200 mL etil asetat sebanyak 3 kali

Lapisan air

Lapisan etil asetat

Diuapkan

Diperoleh ekstrak

3,3198 g

Lampiran 5. Proses Fraksinasi



Alat Corong Pisah

Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Jawa

Fraksi N-Heksana Kulit Buah Asam Jawa

Lampiran 6. Perhitungan Rendemen Kulit Buah Asam Jawa

1. Nilai Rendemen Fraksi *n*-heksana

Berat ekstrak yang difraksinasi = 15 g

Berat fraksi yang diperoleh = 1,2123 g

1. Nilai Rendemen Fraksi Etil Asetat

Berat ekstrak yang difraksinasi = 15 g

Berat fraksi yang diperoleh = 3,3198 g

Lampiran 7. Alat Uji

Alat Tanur

Rangkaian Alat Destilasi Azeotrophi



Alat Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 8. Uji Karakterisasasi Simplisia Kulit Buah Asam Jawa

Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol

Penetapan Kadar Air

Penetapan Kadar Abu Total

Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Air



Penetapan Kadar Abu Yang Tidak Larut Dalam Asam

Lampiran 9. Mikroskopik Kulit Buah Asam Jawa



3

2

1



5

4

Keterangan :

1. Fragmen pulpa
2. Fragmen endokarp
3. Parenkim dinding sel tebal seperti batu
4. Serabut dengan berkas pembuluh
5. Kristal kalsium oksalat bentuk prisma

Lampiran 10. Perhitungan Karakterisasi Simplisia Kulit Buah Asam Jawa

1. **Penetapan Kadar Air**

Kadar Air = x 100%

1. Sampel I

Berat sampel = 5 gram

Volume awal = 1,8 ml

Volume akhir = 2 ml

Kadar Air = x 100% = 4 %

1. Sampel II

Berat sampel = 5 gram

Volume awal = 1,8 ml

Volume akhir = 2 ml

Kadar Air = x 100% = 4 %

1. Sampel III

Berat sampel = 5 gram

Volume awal = 2 ml

Volume akhir = 2,2 ml

Kadar Air = x 100% = 4 %

Kadar air rata-rata = = 4 %

Lampiran 10. (Lanjutan)

1. **Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol**

Kadar Sari Larut Dalam Etanol = x Pengenceran x 100%

1. Sampel I

Berat sampel = 5 gram

Berat sari = 0,0863 gram

Kadar Sari Larut Dalam Etanol = x x 100% = 8,63 %

1. Sampel II

Berat sampel = 5 gram

Berat sari = 0,0937 gram

Kadar Sari Larut Dalam Etanol = x 100% = 9,37 %

1. Sampel III

Berat sampel = 5 gram

Berat sari = 0,0931 gram

Kadar Sari Larut Dalam Etanol = x 100% = 9,31 %

Kadar Sari Larut Dalam Etanol rata-rata = = 9,10 %

Lampiran 10. (Lanjutan)

1. **Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Air**

Kadar Sari Larut Dalam Air = x Pengenceran x 100%

1. Sampel I

Berat sampel = 5 gram

Berat sari = 0,1775 gram

Kadar Sari Larut Dalam Air = x x 100% = 17,75 %

1. Sampel II

Berat sampel = 5 gram

Berat sari = 0,1641 gram

Kadar Sari Larut Dalam Air = x x 100% = 16,41 %

1. Sampel III

Berat sampel = 5 gram

Berat sari = 0,175 gram

Kadar Sari Larut Dalam Air = x x 100% = 17,5 %

Kadar Sari Larut Dalam Air rata-rata = = 17, 22 %

Lampiran 10. (Lanjutan)

1. **Penetapan Kadar Abu Total**

Kadar Abu Total = x 100%

1. Sampel I

Berat sampel = 2 gram

Berat abu = 0,0142 gram

Kadar Abu Total = x 100% =0,71 %

1. Sampel II

Berat sampel = 2 gram

Berat abu = 0,0171 gram

Kadar Abu Total = x 100% = 0,855 %

1. Sampel III

Berat sampel = 2 gram

Berat abu = 0,0179 gram

Kadar Abu Total = x 100% = 0,895 %

Kadar Abu Total = = 0,82 %

Lampiran 10. (Lanjutan)

1. **Penetapan Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam**

Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam = x 100%

1. Sampel I

Berat sampel = 2 gram

Berat abu = 0,0068 gram

Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam = x 100% = 0,34 %

1. Sampel II

Berat sampel = 2 gram

Berat abu = 0,0067 g

Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam = x 100% = 0,33 %

1. Sampel III

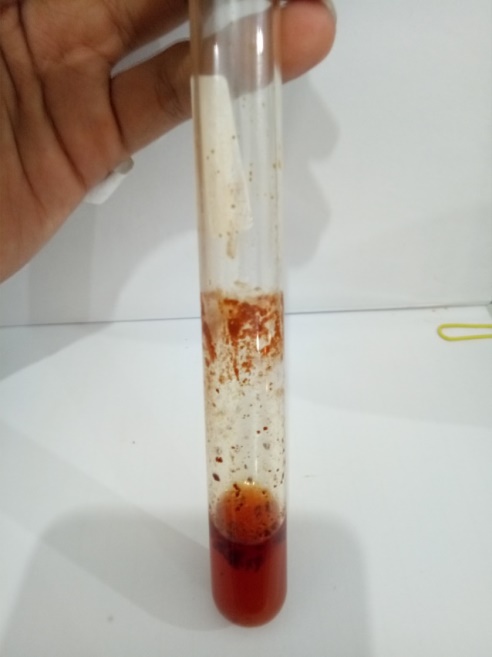
Berat sampel = 2 gram

Berat abu = 0,0074 gram

Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam = x 100% = 0,37 %

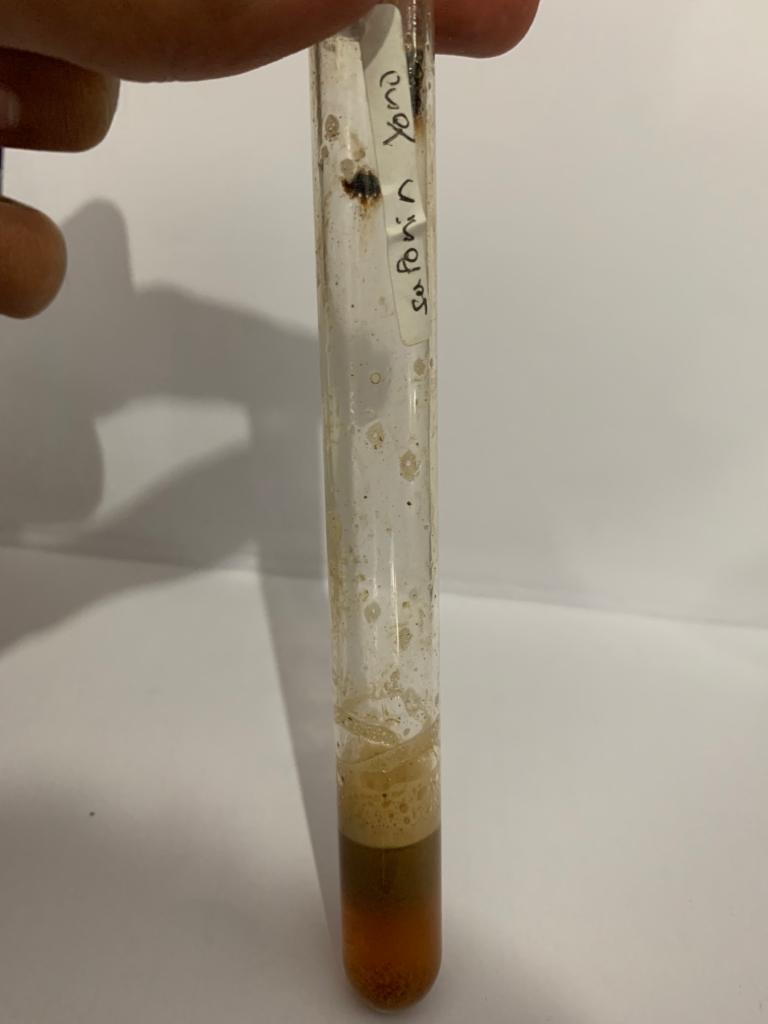
Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam = = 0,35 %

Lampiran 11. Hasil Skrining Metabolit Sekunder Kulit Buah Asam Jawa

Flavonoid (+)

Tanin (+)

Triterpenoid (+)

Saponin (+)

Glikosida (+)

Alkaloid (+)

Lampiran 12. Bagan Alir Pengukuran Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH

20 mg

DPPH

dimasukkan di dalam labu tentukur 100 ml

ad metanol

C=200 µg/mL

1. Pembuatan Larutan DPPH Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

5 mL

DPPH (C=200 µg/mL)

dimasukkan di dalam labu tentukur 25 ml

ad metanol

C=40 µg/mL

1. Penentuan *Operating Time*

5 mL

DPPH (C=200 µg/mL)

dimasukkan di dalam labu tentukur 25 ml

ad metanol

C=40 µg/mL

1. Pembuatan Larutan Sampel

20 mg

Ekstrak

dimasukkan di dalam labu tentukur 100 ml

ad metanol

C=200 µg/mL

**Lampiran 12.** (Lanjutan)

1. Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Sampel

Larutan Sampel

1 mL; 1,5 mL; 2 mL; 2,5 mL; dan 3 mL

dimasukkan di dalam labu tentukur 10 ml

+ 5 ml DPPH

ad metanol

Konsentrasi

20 µg/mL; 30 µg/mL; 40 µg/mL; 50 µg/mL; 60 µg/mL

1. Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Vitamin C

50 mg

Vitamin C

dimasukkan di dalam labu tentukur 100 ml

ad aquadest

LIB I

C=500 µg/mL

dipipet 5 ml

dimasukkan di dalam labu tentukur 25 ml

LIB II

C=100 µg/mL

dipipet 0,5 ml; 1 ml; 1,5 ml; 2 ml dan 2,5 ml

dimasukkan di dalam labu tentukur 10 ml

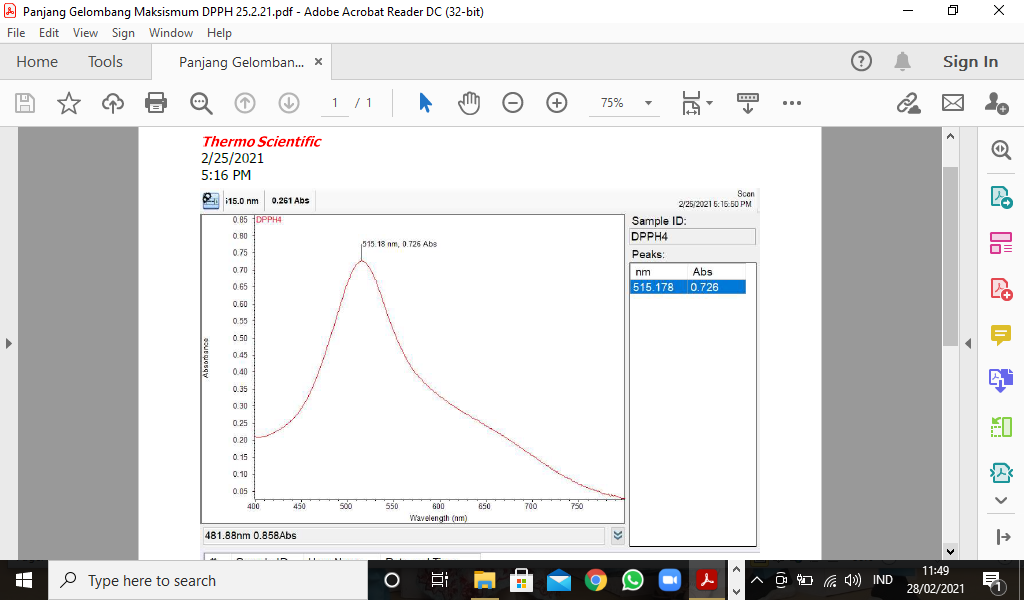
+ 2 ml DPPH

ad aquadest

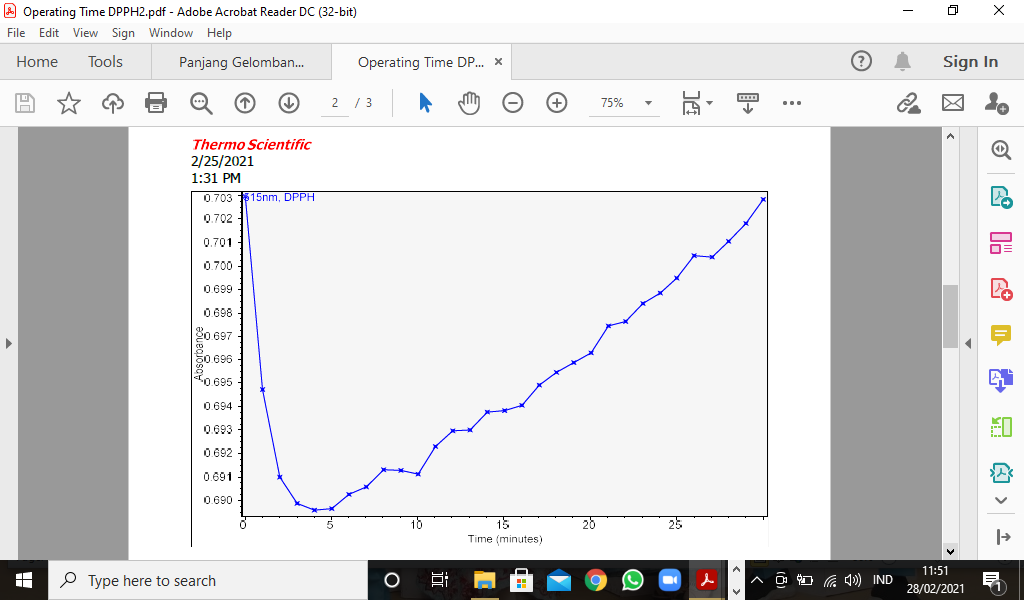
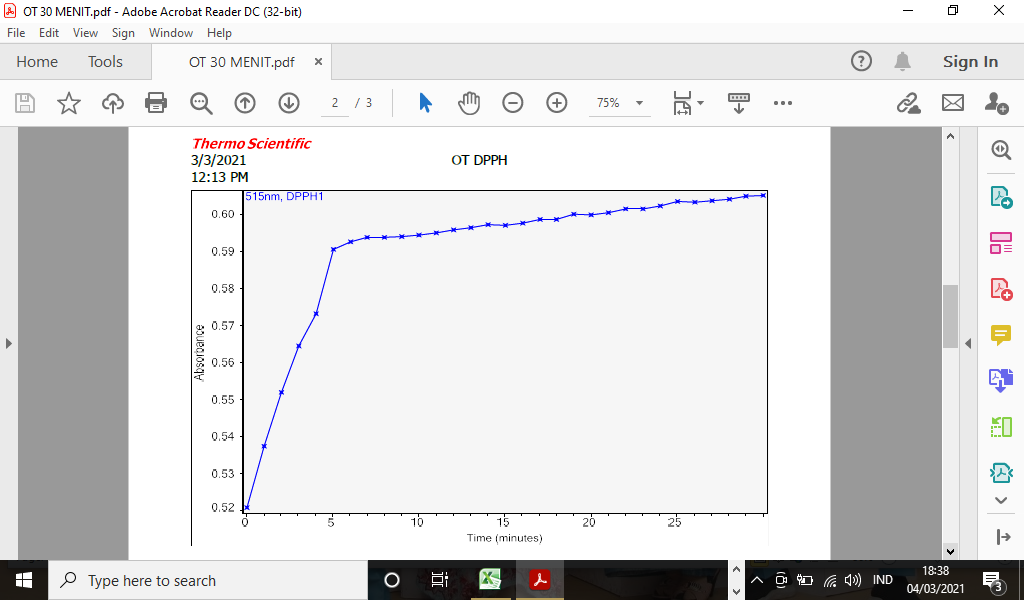
Konsentrasi

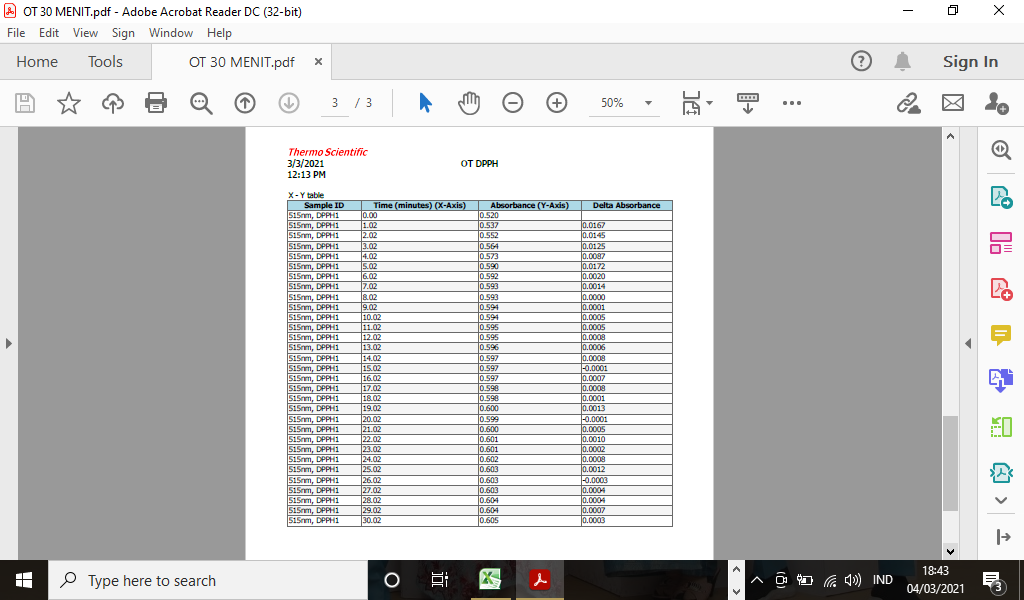
5 µg/mL; 10 µg/mL; 15 µg/mL; 20 µg/mL; 25 µg/mL

Lampiran 13. Hasil Penentuan Kurva Serapan Maksimum Larutan DPPH Dalam Metanol Secara Spektrofotometri UV-Vis

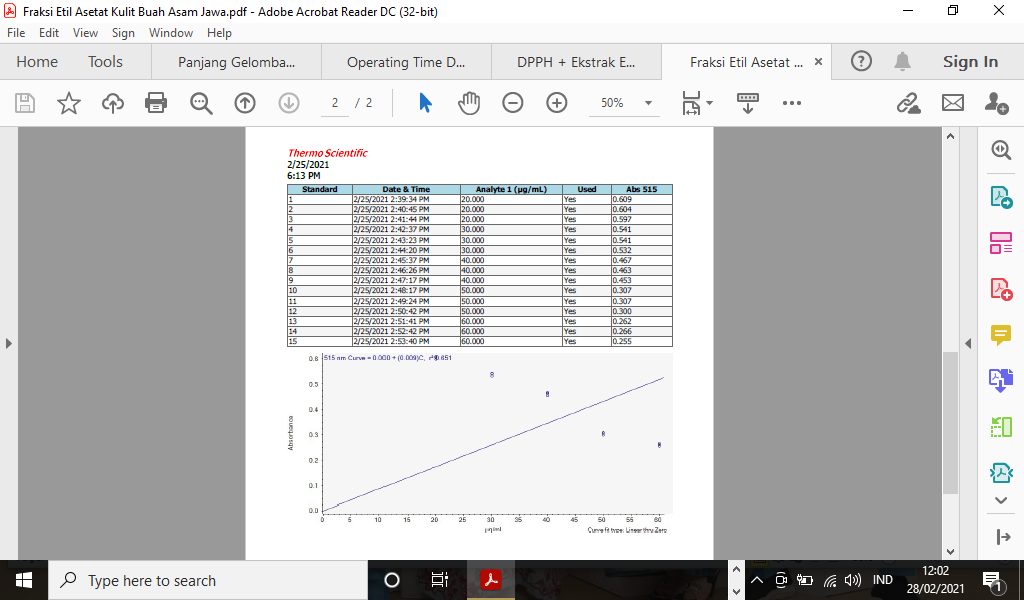


Lampiran 14. Hasil Pengukuran *Operating Time* Larutan DPPH

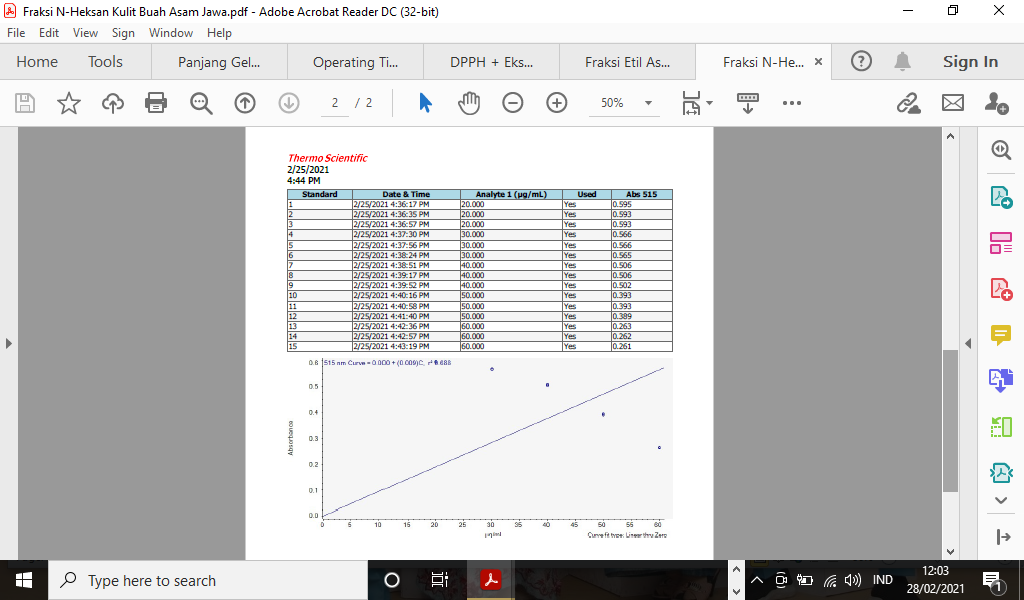




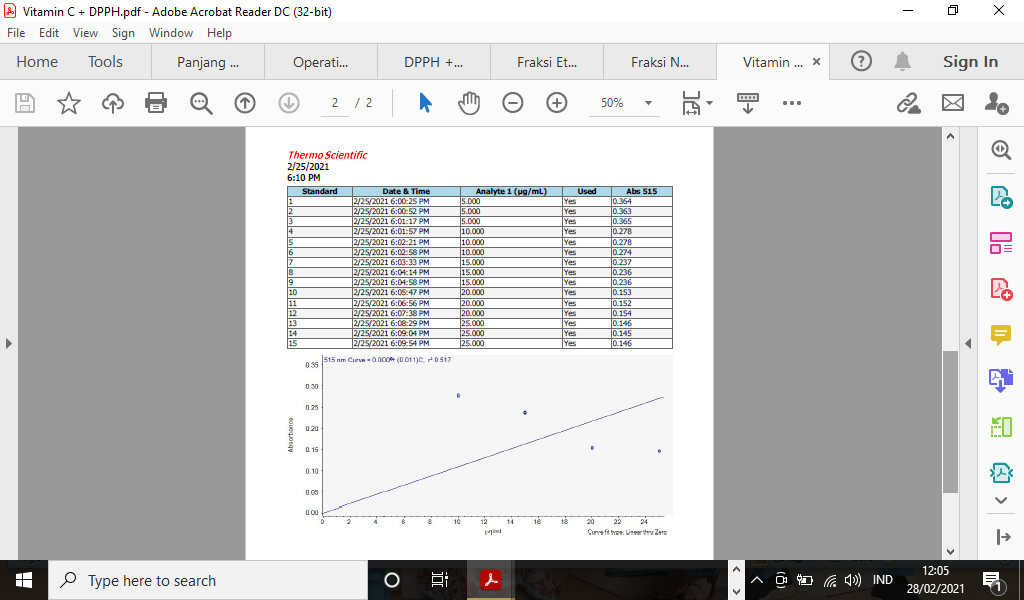
Lampiran 15. Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH Ditambah Larutan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Jawa Berbagai Konsentrasi



Lampiran 16. Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH Ditambah Larutan Fraksi N-Heksana Kulit Buah Asam Jawa Berbagai Konsentrasi



Lampiran 17. Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH Ditambah Larutan Vitamin C Berbagai Konsentrasi



Lampiran 18. Perhitungan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

1. **Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Jawa**
2. Tabel data absorbansi % peredaman radikal bebas oleh fraksi etil asetat kulit buah asam jawa

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Larutan Uji (µg/ml )** | **Pengukuran (A)** | | | | **Rata-rata (A)** | **% Peredaman** |
| **Kontrol** | **1** | **2** | **3** |
| DPPH | 0,726 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | - |
| 20 | 0,726 | 0,609 | 0,604 | 0,597 | 0,603 | 16,94 |
| 30 | 0,726 | 0,541 | 0,541 | 0,532 | 0,538 | 25,89 |
| 40 | 0,726 | 0,467 | 0,463 | 0,453 | 0,461 | 36,5 |
| 50 | 0,726 | 0,307 | 0,307 | 0,3 | 0,305 | 57,98 |
| 60 | 0,726 | 0,262 | 0,266 | 0,255 | 0,261 | 64,04 |

Keterangan : Akontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

Asampel = Absorbansi sampel

Perhitungan % peredaman fraksi etil asetat kulit buah asam jawa

1. Konsentrasi 20 µg/ml
2. Konsentrasi 30 µg/ml
3. Konsentrasi 40 µg/ml

36,50 %

1. Konsentrasi 50 µg/ml

Lampiran 18. (Lanjutan)

1. Konsentrasi 60 µg/ml
2. Tabel data perhitungan IC50 fraksi etil asetat kulit buah asam jawa

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **X** | **Y** | **XY** | **X²** | **Y²** |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 16,94 | 338,8 | 400 | 286,96 |
| 30 | 25,89 | 776,7 | 900 | 670,29 |
| 40 | 36,5 | 1460 | 1600 | 1332,25 |
| 50 | 57,98 | 2899 | 2500 | 3361,68 |
| 60 | 64,04 | 3842,4 | 3600 | 4101,12 |
| ∑X = 200 | ∑Y = 201,35 | ∑XY = 9316,9 | ∑X2 = 9000 | ∑Y2 = 9752,31 |
| = 33,33 | 33,56 |

X = Konsentrasi

Y = % Peredaman

1,11

b =

b = 33,56 – (1,11) (33,33)

b = -3,43

Lampiran 18. (Lanjutan)

r = 0,98

Persamaan garis regresi Y = aX ± b

Nilai IC50 = Y = 1,11X – 3,43

Nilai Y diganti dengan 50 (penghambatan DPPH 50%)

50 = 1,11X – 3,43

X= 48,13 µg/ml

**IC50 = 48,13 µg/ml**

**Kategori Aktivitas Antioksidan : Sangat Kuat**

Lampiran 18. (Lanjutan)

1. **Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi *N*-Heksana Kulit Buah Asam Jawa**
2. Tabeldata absorbansi % peredaman radikal bebas oleh fraksi *n*-heksana kulit buah asam jawa

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Larutan Uji (µg/ml )** | **Pengukuran (A)** | | | | **Rata-rata (A)** | **% Peredaman** |
| **Kontrol** | **1** | **2** | **3** |
| 0 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | - |
| 20 | 0,726 | 0,595 | 0,593 | 0,593 | 0,594 | 18,18 |
| 30 | 0,726 | 0,566 | 0,566 | 0,565 | 0,566 | 22,03 |
| 40 | 0,726 | 0,506 | 0,506 | 0,502 | 0,505 | 30,44 |
| 50 | 0,726 | 0,393 | 0,393 | 0,389 | 0,392 | 46 |
| 60 | 0,726 | 0,263 | 0,262 | 0,261 | 0,262 | 63,91 |

Keterangan : Akontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

Asampel = Absorbansi sampel

Perhitungan % peredaman fraksi *n*-heksana kulit buah asam jawa

1. Konsentrasi 20 µg/ml
2. Konsentrasi 30 µg/ml
3. Konsentrasi 40 µg/ml
4. Konsentrasi 50 µg/ml

Lampiran 18. (Lanjutan)

1. Konsentrasi 60 µg/ml
2. Tabel data perhitungan IC50 fraksi *n*-heksana kulit buah asam jawa

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **X** | **Y** | **XY** | **X²** | **Y²** |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 18,18 | 363,6 | 400 | 330,51 |
| 30 | 22,03 | 660,9 | 900 | 485,32 |
| 40 | 30,44 | 1217,6 | 1600 | 926,59 |
| 50 | 46 | 2300 | 2500 | 2116,00 |
| 60 | 63,91 | 3834,6 | 3600 | 4084,49 |
| ∑X = 200 | ∑Y = 180,56 | ∑XY = 8376,7 | ∑X2 = 9000 | ∑Y2 = 7942,92 |
| = 33,33 | 30,09 |

X = Konsentrasi

Y = % Peredaman

1,01

b =

b = 30,09 – (1,01) (33,33)

b = -3,57

r = 0,97

Persamaan garis regresi Y = aX ± b

Nilai IC50 = Y = 1,01X – 3,57

Nilai Y diganti dengan 50 (penghambatan DPPH 50%)

50 = 1,01X – 3,57

X= 53,03 µg/ml

**IC50 = 53,03 µg/ml**

**Kategori Aktivitas Antioksidan : Kuat**

Lampiran 18. (Lanjutan)

1. **Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C Sebagai Kontrol Positif**
2. Tabeldata absorbansi % peredaman radikal bebas oleh vitamin C sebagai kontrol positif

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Larutan Uji (µg/ml )** | **Pengukuran (A)** | | | | **Rata-rata (A)** | **% Peredaman** |
| **Kontrol** | **1** | **2** | **3** |
| 0 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | 0,726 | - |
| 5 | 0,726 | 0,364 | 0,363 | 0,365 | 0,364 | 49,86 |
| 10 | 0,726 | 0,278 | 0,278 | 0,274 | 0,277 | 61,89 |
| 15 | 0,726 | 0,237 | 0,236 | 0,236 | 0,236 | 67,45 |
| 20 | 0,726 | 0,153 | 0,152 | 0,154 | 0,153 | 78,93 |
| 25 | 0,726 | 0,146 | 0,145 | 0,146 | 0,146 | 79,94 |

Keterangan : Akontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

Asampel = Absorbansi sampel

Perhitungan % peredaman vitamin C sebagai kontrol positif

1. Konsentrasi 20 µg/ml
2. Konsentrasi 30 µg/ml
3. Konsentrasi 40 µg/ml
4. Konsentrasi 50 µg/ml

Lampiran 18. (Lanjutan)

1. Konsentrasi 60 µg/ml
2. Tabel data perhitungan IC50 vitamin C sebagai kontrol positif

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **X** | **Y** | **XY** | **X²** | **Y²** |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 49,86 | 249,30 | 25 | 2486,02 |
| 10 | 61,84 | 618,40 | 100 | 3824,19 |
| 15 | 67,49 | 1012,35 | 225 | 4554,90 |
| 20 | 78,92 | 1578,40 | 400 | 6228,37 |
| 25 | 79,88 | 1997,00 | 625 | 6380,81 |
| ∑X = 75 | ∑Y = 337,99 | ∑XY = 5455,45 | ∑X2 = 1375 | ∑Y2 = 23474,29 |
| = 12,5 | 56,33 |

X = Konsentrasi

Y = % Peredaman

2,81

b =

b = 56,33 – (2,81) (12,5)

b = 21,21

Lampiran 18. (Lanjutan)

r = 0,88

Persamaan garis regresi Y = aX ± b

Nilai IC50 = Y = 2,81X + 21,21

Nilai Y diganti dengan 50 (penghambatan DPPH 50%)

50 = 2,81X + 21,21

X = 10,24 µg/ml

**IC50 = 10,24 µg/ml**

**Kategori Aktivitas Antioksidan : Sangat Kuat**