

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK ETANOL DAN
N-HEKSANA DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.)**

SKRIPSI



SANYA DIAN FIRDA

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK ETANOL DAN
N-HEKSANA DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.)**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Sanya Dian Firda
NIM 081711433046

Disetujui oleh :

Pembimbing I,



Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes.

NIP. 197107142002122002

Pembimbing II,



Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS.

NIP. 195704211984032003

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Bioaktif
Ekstrak Etanol dan N-Heksana Daun Belimbing Wuluh
(*Averrhoa bilimbi* L.)

Penyusun : Sanya Dian Firda

NIM : 081711433046

Pembimbing I : Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes.

Pembimbing II : Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS.

Tanggal Ujian : 28 Januari 2022

Disetujui oleh,

Pembimbing I,



Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes.

NIP. 197107142002122002

Pembimbing II,



Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS.

NIP. 195704211984032003

Mengetahui,

Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.

NIP. 196602211992032001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak Universitas Airlangga.

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Sanya Dian Firda

NIM 081711433046

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Universitas : Airlangga

Jenjang : S1

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindak plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
BIOAKTIF EKSTRAK ETANOL DAN N-HEKSANA DAUN BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 31 Januari 2022



Sanya Dian Firda

NIM. 081711433046

Sanya Dian Firda, **Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Etanol dan N-Heksana Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)**. Skripsi ini di bawah bimbingan Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes. dan Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, metabolit sekunder, dan kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak etanol dan n-heksana daun *Averrhoa bilimbi*. Ekstraksi daun *Averrhoa bilimbi* dilakukan dengan metode maserasi. Pada penelitian ini dilakukan 3 perlakuan, yaitu uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, identifikasi metabolit sekunder dengan skrining fitokimia, serta identifikasi senyawa bioaktif dengan metode GC-MS. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 62,363. Sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana daun belimbing wuluh sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 149,771 ppm. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun *Averrhoa bilimbi* mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Sedangkan ekstrak n-heksana daun *Averrhoa bilimbi* mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid. Hasil analisis GC-MS ekstrak etanol daun *Averrhoa bilimbi* mengandung 21 senyawa aktif dengan luas area tertinggi yaitu *1-Nitro-2-acetamido-1,2-dideoxy-d-glucitol* (21,46%). Sedangkan ekstrak n-heksana daun *Averrhoa bilimbi* mengandung 12 jenis senyawa aktif dengan luas area tertinggi yaitu *Hexadecanoic acid, methyl ester* (15,36%).

Kata Kunci : aktivitas antioksidan, daun *Averrhoa bilimbi* L., etanol, metabolit sekunder, n-heksana, senyawa bioaktif

Sanya Dian Firda, **Antioxidant Activity Assay and Identification of Active Compound from Ethanol and N-Hexane Leaves Extract of Starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.)**. Skripsi ini di bawah bimbingan Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes. dan Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine antioxidant activity, identified secondary metabolites and active compound of the *Averrhoa bilimbi* leaves. *Averrhoa bilimbi* leaves were extracted by maceration method using ethanol and n-hexane as solvents. This study using three methods, there are antioxidant assay by DPPH method, identification of secondary metabolites by phytochemical screening method, and identification of active compounds by GC-MS method. The result of the antioxidant assay of the ethanol extract of *Averrhoa bilimbi* leaves showed that it was strong with an IC₅₀ value of 62,363 ppm and the n-hexane extract of *Averrhoa bilimbi* leaves was medium with an IC₅₀ value of 149,771 ppm. The phytochemical screening result of the *Averrhoa bilimbi* leaves ethanol extract contain flavonoid, alkaloid, terpenoid, and saponin. The n-hexane extract of *Averrhoa bilimbi* leaves contain alkaloid. The results of GC-MS analyst showed 21 active compounds in the ethanol extract of *Averrhoa bilimbi* leaves with the highest peak area were *1-Nitro-2-acetamido-1,2-dideoxy-d-glucitol* (21,46%). The n-hexane extract of *Averrhoa bilimbi* leaves showed 12 active compounds with the highest peak area were *Hexadecanoic acid, methyl ester* (15,36%).

Keywords: antioxidant activity, ethanol, *Averrhoa bilimbi* L. leaves, n-hexane, secondary metabolite, active compound

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Etanol dan N-Heksana Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat agar dapat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) dan mendapat gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang turut membantu, memberikan masukan dan arahan, serta memberi dukungan dalam penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan lancar. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat bagi kemajuan pengetahuan dan dapat memberi referensi untuk penelitian selanjutnya.

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas rahmat dan karunia-Nya, penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak. Oleh karena ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes. selaku dosen pembimbing I yang senantiasa meluangkan waktu dan tenaganya dalam memberikan arahan dan bimbingan.
2. Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS. selaku dosen pembimbing II yang selalu memberikan bimbingan, kritik, dan saran selama proses penelitian dan penulisan naskah.
3. Dr. Listijani Suhargo, Dra, M.Si. selaku dosen penguji III dan dosen wali yang senantiasa meluangkan waktu, kritik, dan saran yang membangun.
4. Dr. Ni'matuzahroh selaku dosen penguji IV yang senantiasa memberikan kritik dan saran yang membangun.
5. Prof. Dr. Moh. Yasin, M.Si. selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
6. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. selaku kepala Departemen Biologi serta ketua program studi S-1 Biologi Universitas Airlangga.
7. Seluruh dosen Fakultas Sains dan teknologi yang sudah mendidik penulis hingga bisa seperti sekarang.
8. Hasan Adro'i, M.Si. dan Mufida Utami Rizka, S.Si. selaku laboran laboratorium genetika molekuler dan fisiologi tumbuhan yang membantu kelancaran peneliti.
9. Joko Ismanto, S.Sos. selaku staff Fakultas Sains dan Teknologi yang membantu kelancaran peneliti.
10. Tim Proyek antioksidan yaitu Aini Nur Latifah, Anthony Daniel Santo Borosi, Deanira Fatwa Alma, Ericha Fajar Cahyani, Fakhriyah Dini Aqila, Febri Dwi Irfansyah, Risanda Ulinnuha, dan Tesalonika Tetya Virginia, terima kasih telah menjadi tim yang luar biasa dalam bekerja sama, saling membantu, dan saling memotivasi.

11. Teman-teman seperjuangan di laboratorium genetika molekuler dan fisiologi tumbuhan yang sudah banyak membantu selama proses penelitian.
12. Nabilah Istighfari, S.Si., M.Si. atas ilmu dan cerita pengalamannya sehingga penulis mendapatkan inspirasi selama penelitian.
13. Ayah, ibu, dan adik yang tak henti memberikan doa, dukungan materil dan moral serta selalu memotivasi agar terus berusaha dan menjadi pribadi yang lebih baik.
14. Ayu Sarwahita, Eleina Dwi Mawarni, Dani Tri Indriati, Imarotus Shofiyah, Lucky Vera, Nithasyah Nabila, Risky Lailatul Ayu Fadilah, dan Siti Rizqiyatul Mukarromah yang telah menemani perjalanan penulis, selalu memberikan semangat, dukungan, dan motivasi.
15. Teman-teman Biologi 2017 yang sudah memberi kesan dan pengalaman yang luar biasa selama perkuliahan.
16. Keluarga besar HIMBIO, Fakultas Sains dan Teknologi atas kesempatan berorganisasi yang sudah diberikan kepada penulis.

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Asumsi Penelitian	4
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Tujuan Penelitian.....	5
1.6 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Umum Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.).....	6
2.1.1 Morfologi Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	7
2.1.2 Kandungan Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	7

2.1.3 Manfaat Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.).....	8
2.2 Ekstraksi	9
2.3 Pelarut.....	10
2.4 Antioksidan.....	11
2.5 Metode DPPH.....	14
2.6 Metabolit sekunder	15
2.7 Skrining Fitokimia.....	18
2.8 GC-MS	19
BAB III METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	20
3.2.1 Bahan Penelitian	20
3.2.2 Alat penelitian.....	20
3.3 Tahap Penelitian	20
3.3.1 Pembuatan Simplisia.....	20
3.3.2 Pembuatan Ekstrak.....	21
3.3.3 Uji Aktivitas Antioksidan	21
3.3.4 Penentuan Nilai Inhibition Concentration 50% (IC ₅₀)	22
3.3.5 Analisis Senyawa dengan GC–MS	23
3.3.6 Identifikasi Metabolit Sekunder (Skrining Fitokimia).....	24
3.4 Variabel Penelitian	24
3.5 Rancangan Penelitian	25
3.6 Pengumpulan Data.....	25
3.7 Analisis Data.....	26
3.8 Alur Penelitian	27

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Hasil Penelitian.....	28
4.1.1 Ekstraksi Daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	28
4.1.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	28
4.1.3 Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	30
4.1.4 Hasil GC-MS Ekstrak Daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	31
4.2 Pembahasan	35
4.2.1 Ekstraksi Daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	35
4.2.2 Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Averrhoa bilimbi</i> ..	36
4.2.3 Analisis Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	39
4.2.3 Analisis GC-MS Ekstrak Daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	41
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran... ..	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
3.1	Klasifikasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50}	22
4.1	Nilai IC_{50} dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan n-heksana daun <i>Averrhoa bilimbi</i> serta silymarin dengan metode DPPH	29
4.2	Hasil metabolit sekunder ekstrak etanol dan n-heksana daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dengan metode skrining fitokimia	30
4.3	Hasil senyawa aktif ekstrak etanol daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dengan metode GC-MS.....	32
4.4	Hasil senyawa aktif ekstrak n-heksana daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dengan metode GC-MS	34

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
2.1	Tanaman belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) (a) pohon, (b) daun, (c) bunga dan (d) buah.....	6
2.2	Reaksi DPPH dengan antioksidan	15
2.3	Ringkasan jalur-jalur utama biosintesis metabolit sekunder dan hubungannya dengan metabolisme primer .	16
2.4	Skema alur instrumen GC–MS	19
3.1	Diagram alur penelitian.....	28
4.1	Hasil ekstraksi etanol daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dan hasil ekstraksi n-heksana daun <i>Averrhoa bilimbi</i>	28
4.2	Kurva aktivitas antioksidan etanol dan n-heksana daun <i>Averrhoa bilimbi</i> serta Silymarin dengan metode DPPH	29
4.2	Profil kromatogram ekstrak etanol daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dengan metode GC-MS.....	31
4.3	Profil kromatogram ekstrak n-heksana daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dengan metode GC-MS	33

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1	Preparasi sampel daun <i>Averrhoa bilimbi</i>
3	Ekstraksi daun <i>Averrhoa bilimbi</i>
4	Uji DPPH ekstrak daun <i>Averrhoa bilimbi</i>
5	Skrining fitokimia ekstrak daun <i>Averrhoa bilimbi</i>
6	Identifikasi senyawa bioaktif ekstrak etanol daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dengan metode GC-MS
7	Identifikasi senyawa bioaktif ekstrak etanol daun <i>Averrhoa bilimbi</i> dengan metode GC-MS