



**EKSTRAKSI SENYAWA FENOLIK PADA KULIT ARI  
KACANG TANAH (*Arachis Hypogaea L.*)  
MENGGUNAKAN IRRADIASI MICROWAVE DAN  
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN**

Skripsi

disajikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains  
Program Studi Kimia

oleh

Mega Kurnia Putri

4311411008

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG  
2015**

## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila dikemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, September 2015



Mega Kurnia Putri  
4311411008

### **PERSETUJUAN PEMBIMBING**

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan dihadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Semarang, September 2015

Pembimbing I,



Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si  
NIP. 196412051990021001

Pembimbing II,



Dra. Woro Sumarni, M.Si  
NIP. 196507231993032001

## PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Ekstraksi Senyawa Fenolik pada Kulit Ari Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea L.*) menggunakan Irradiasi Microwave dan Uji Aktivitas Antioksidan

Disusun oleh

Nama : Mega Kurnia Putri

NIM : 4311411008

Telah dipertahankan dihadapan Sidang Panitia Ujian skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 7 September 2015

Panitia Ujian,



Sekretaris

Dra. Woro Sumarni, M.Si  
NIP. 196507231993032001

Ketua Pengaju

Agung Tri Prasetya, S.Si, M.Si  
NIP. 196904041994021001

Anggota pengaju/  
Pembimbing I

Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si  
NIP. 196412051990021001

Anggota pengaju/  
Pembimbing II

Dra. Woro Sumarni, M.Si  
NIP. 196507231993032001

## **MOTTO DAN PERSEMPAHAN**

### **MOTTO**

1. *Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. (QS.Al-Insyirah : 5-6)*
2. Melihat ke bawah agar dapat bersyukur dan melihat ke atas agar terus berusaha menjadi lebih baik
3. Keberhasilan seseorang bukan dilihat dari hasil yang telah dicapai namun berat, ringan dan jumlah rintangan yang dihadapi saat berusaha meraih keberhasilan itu sendiri..

### **PERSEMPAHAN**

1. Kedua orang tua, Bapak Eko Ibnuhadi dan Ibu Muhti Riniarsih yang telah memberikan segala dukungan, baik dukungan semangat moril dan materiil. Dan paling utama terima kasih atas segala doa yang tiada henti.
2. Kedua kakak dan adik saya, mas bayu, mas surya, dek bintang, terima kasih atas semua hal, kebersamaan dalam keluarga yang tak ternilai harga dan parameternya tak terhingga.
3. Nenek Siti Soentari yang ingin melihat cucunya menjadi seorang sarjana dan sukses. Semoga beliau di surga melihat dengan penuh bahagia.
4. Teman-teman yang mendukung, membantu dan menyemangati penulis, Sofia, Hasna, Yanti, Nina, Aini, Edo, Fransiska, Anis, Risma, Cacik, Devi, Euodia dan teman-teman prodi Kimia 2011.

## **PRAKATA**

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam semoga selalu tercurah kepada Rasulullah SAW. Dengan perjuangan dan rasa syukur penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Ekstraksi Senyawa Fenolik pada Kulit Ari Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea L.*) menggunakan Irradiasi Microwave dan Uji Aktivitas Antioksidan”.

Penulisan skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
3. Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
4. Kepala Laboratorium dan laboran-laboran Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin penelitian dan membanru jalannya penelitian.
5. Bapak Prof. Dr. Edy Cahyono M.Si. selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan ilmu, arahan, waktu, serta bimbingan dalam pelaksanaan penelitian serta penyusunan skripsi.

6. Ibu Dra. Woro Sumarni, M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan ilmu, arahan, serta bimbingan dalam pelaksanaan penelitian serta penyusunan skripsi.
7. Bapak Agung Tri Prasetya, S.Si, M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan evaluasi serta saran dalam penulisan skripsi.
8. Bapak/Ibu Dosen Jurusan Kimia.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Mohon maaf atas kesalahan yang mungkin terdapat di dalamnya.

Semarang, September 2015

Penulis

## **ABSTRAK**

Putri, M. K. 2015. *Ekstraksi Senyawa Fenolik pada Kulit Ari Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea L.*) menggunakan Irradiasi Microwave dan Uji Aktivitas Antioksidan*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si., dan Pembimbing Pendamping Dra. Woro Sumarni, M. Si

Kata Kunci: kulit ari kacang tanah, senyawa fenolik, aktivitas antioksidan,

DPPH

Limbah kulit ari kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) umumnya dihasilkan dari industri kacang yang menghasilkan berbagai produk olahan kacang yang sebagian besar limbahnya belum dimanfaatkan. Hal ini sangat disayangkan karena di dalam kulit ari kacang tanah terkandung senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan alami. Antioksidan alami dari senyawa fenolik kulit ari kacang tanah dapat diperoleh melalui proses ekstraksi kulit ari kacang tanah menggunakan irradiasi microwave. Ekstraksi dengan menggunakan irradiasi microwave pada penelitian ini merupakan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa yang terkandung di dalam kulit ari kacang tanah, menentukan *Total Phenolic Content* (TPC) pada berbagai konsentrasi etanol sebagai pelarut, dan perbandingan sampel dan pelarut serta membandingkan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak kulit ari kacang tanah dengan vitamin C dan BHA. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa pada konsentrasi etanol 96%, dan perbandingan sampel dan pelarut 1:10 dihasilkan ekstrak kulit ari kacang tanah dengan TPC terbesar yaitu 47,80 mg GAE/gr ekstrak. % aktivitas antioksidan kulit ari kacang tanah lebih besar dari BHA, dan lebih kecil daripada vitamin C. (kulit ari kacang tanah = 29,15%, BHA= 24,25%, vitamin C = 96,29%)

## **ABSTRACT**

Putri, M. K. 2015. *Extraction of phenolic compounds on the peanut hulls (*Arachis Hypogaea L.*) using irradiasi microwave and antioxidant activity*. Undergraduate Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Primary Supervisor: Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si., Supervising Companion: Dra. Woro Sumarni, M. Si.

*Keywords:* peanut hulls, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH

The waste of peanut hulls (*Arachis Hypogaea L.*) is generally produced from the peanut industry, that produces variety of peanut products are largely untapped. This is unfortunate situation because peanut hulls contain phenolic compounds that can be used as natural antioxidants. These phenolic compounds can be obtained through peanut hulls extraction using microwave irradiation. Microwave irradiation is extraction supported by microwave. The aim of this study was to identify the compounds contained in the peanut hulls. Determination of Total Phenolic Content (TPC) is conducted in various ethanol concentration as solvent, and ratio number between sample and solvent. Comparison antioxidant activity of phenolic compound obtained from peanut hulls with vitamin C and BHA through DPPH method. Based on the results of this study, the greatest TPC was 47,80 mg GAE/g of extract showed in ethanol concentration of 96% and the ratio between sample and solvent at 1:10. % antioxidant activity of phenolic compound obtained from peanut hulls was greater compared with BHA but smaller compared with vitamin C. (peanut hulls = 29.15%, BHA = 24.25%, vitamin C = 96.29%)

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN .....	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB	
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Kacang Tanah ( <i>Arachis hypogaea L.</i> ) .....	7
2.2 Kulit Ari Kacang Tanah.....	8
2.3 Ekstraksi.....	10
2.4 <i>Microwave Assisted Extraction (MAE)</i> .....	11
2.5 Antioksidan .....	15
2.6 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH .....	19
2.7 Uji Antioksidan Menggunakan Metode IC <sub>50</sub> .....	21
3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Variabel Penelitian.....	22

3.2 Alat dan Bahan.....	22
3.3 Prosedur Penelitian .....	23
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Preparasi Bahan .....	29
4.2 Uji Penapisan Fitokimia.....	29
4.3 Hasil Ekstraksi .....	33
4.4 Analisis Kuantitatif <i>Total Phenolic Content</i> .....	34
4.5 Analisis Gugus Fungsi Menggunakan Spektroskopi IR .....	37
4.6 Aktivitas Antioksidan .....	39
4.7 Analisis Antioksidan Menggunakan Metode IC <sub>50</sub> .....	42
5. SIMPULAN DAN SARAN .....	45
5.1 Simpulan .....	45
5.2 Saran .....	45
DAFTAR PUSTAKA .....	46
LAMPIRAN.....	50

## **DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Kandungan senyawa pada kulit, kulit ari, dan biji kacang tanah .....	9
2. Hasil uji penapisan fitokimia kulit ari kacang tanah.....	29
3. Hasil ekstrak kulit ari kacang tanah .....	33
4. Sifat fisik ekstrak kulit ari kacang tanah.....	33
5. Hasil pengukuran larutan asam galat standar.....	35
6. Hasil penentuan kadar TPC kulit ari kacang tanah .....	37
7. Hasil analisis aktivitas antioksidan .....	41
8. Nilai IC <sub>50</sub> ekstrak kulit ari kacang tanah dan BHA.....	43

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kacang tanah ( <i>Arachis Hypogaea L.</i> ) .....	7
2. Mekanisme kerja DPPH.....	20
3. Struktur asam <i>p</i> -hidroksi benzoate.....	30
4. Struktur kimia tannin terkondensasi golongan prosianidin .....	31
5. Struktur Luteolin .....	32
6. Struktur Asam Galat .....	34
7. Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat 0,06 mg/ml .....	35
8. Kurva kalibrasi asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu pada panjang gelombang 765 nm .....	36
9. Spektra infra merah dari ekstrak padat kulit ari kacang tanah.....	38
10. Spektra infra merah dari ekstrak pekat kulit ari kacang tanah.....	38
11. Panjang Gelombang Maksimum DPPH 50 $\mu$ M.....	40
12. Kurva IC <sub>50</sub> pada kulit ari kacang.....	42
13. Kurva IC <sub>50</sub> pada BHA .....	43

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	50
2. Perhitungan .....	54
3. Dokumentasi Penelitian .....	60

## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) merupakan salah satu jenis tanaman pertanian yang tersebar luas dan ditanam di Indonesia. Tanaman ini merupakan tanaman serbaguna karena hampir semua bagiannya digunakan untuk berbagai keperluan manusia. Produk utamanya adalah biji yang digunakan sebagai bahan makanan.

Terdapat banyak industri kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) yang menghasilkan berbagai produk olahan berkualitas. Sebagai contoh, produk kacang bawang / kacang goreng yang biasa dihasilkan oleh industri rumahan atau industri besar yang ada di Indonesia, biasanya bagian yang digunakan adalah biji kacangnya dan kulit ari dari kacang tanah dibuang begitu saja. Suplai produksi kacang tanah pada industri-industri makanan yang berbahan dasar kacang tanah di Indonesia sangatlah besar, sehingga dihasilkan limbah dalam jumlah yang besar. Kulit ari kacang belum dimanfaatkan dan pada umumnya dibuang begitu saja sebagai limbah. Hal ini sangat disayangkan karena di dalam kulit ari kacang terkandung senyawa fenolik yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami (Wee *et al.*, 2007).

Menurut Arimbi., (2010), kulit ari kacang tanah dapat dimanfaatkan sebagai minuman isotonic dengan cara merebus kulit ari kacang tanah, dan air

rebusan kulit ari dapat diminum. Minuman isotonik merupakan minuman yang memiliki tekanan osmotik yang sama dengan tekanan darah manusia, minuman isotonik yang dijual di pasaran biasanya sudah dilengkapi dengan vitamin plus. Fungsi minuman isotonik adalah mengganti cairan tubuh manusia yang hilang dan juga menambah tenaga serta mengganti ion tubuh yang hilang saat beraktivitas. Komposisi minuman isotonik adalah 98% air, dua persen lainnya berupa ion natrium klorida, kalium fosfat, magnesium sitrat, dan kalsium laktat. Kulit ari kacang tanah juga sering dimanfaatkan sebagai obat herbal berbagai penyakit seperti Demam Berdarah dan obat anti kanker.

Kulit ari kacang tanah mengandung asam *p*-hidroksi benzoat, resveratrol, luteolin, katekin dan prosianidin. Prosianidin adalah polifenol yang juga terdapat dalam teh hijau, beberapa sayuran dan buah-buahan yang berpotensi menghambat penyakit kardiovacular dan kanker (Anonim, 2006).

Menurut Yu *et al.*, (2007), Hoang *et al.*, (2008), dan Win *et al.*, (2011), kulit ari kacang tanah berpotensi sebagai antioksidan alami yang aman karena mengandung beberapa senyawa fenolik. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenolik di alam mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Senyawa fenolik alam antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, melanin, tannin), dan kuinon fenolik turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol (Vitamin E) dan asam-asam organic polifungsional. (Kurniawan, 2012).

Menurut Yu *et al.*, (2007), kulit ari kacang tanah yang diekstrak dengan pelarut etanol 80 %, didapatkan hasil total fenolik kulit ari kacang tanah langsung kupas sebesar 130 mg GAE/100g, kulit ari kacang tanah yang di oven sebesar 124 mg GAE/100g, dan total fenolik pada kulit ari kacang tanah dengan proses perendaman air panas sebesar 14,4 mg GAE/100g. Berdasarkan analisis menggunakan liquid kromatografi spectrophotometer massa, limbah kulit ari kacang tanah yang diperoleh setelah dioven mengandung total katekin 8,8 mg/100g, prosianidin dimer 143,5 mg/100g, prosianidin trimer 157,5 mg/100 g dan prosianidin tetramer 203,9 mg/100g.

Metode ekstraksi digunakan untuk memperoleh hasil ekstrak kulit ari kacang tanah yang kemudian dianalisa *Total Phenolic Content* (TPC) dengan perbedaan variasi. TPC merupakan total senyawa fenolik dalam ekstrak yang dinyatakan dalam gram gallic acid equivalent (GAE)/100 gram ekstrak. TPC ditentukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* yang dianggap sebagai salah satu metode terbaik untuk menentukan TPC. Hasil Total Phenolic Content terbesar digunakan untuk menentukan kadar antioksidannya. (Sultana *et al.*, 2007)

Metode ekstraksi yang paling umum digunakan adalah *solvent extraction* (SE) yaitu maserasi dan sokhlet. Kekurangan dari *solvent extraction* (SE) yaitu memerlukan waktu ekstraksi yang lama dan membutuhkan sampel dan pelarut yang banyak. Saat ini mulai banyak digunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE). Ekstraksi dengan MAE ini dapat meningkatkan kecepatan transfer massa zat terlarut dari matriks sampel ke dalam pelarut dibandingkan metode SE. (Mandal *et al.*, 2007). Oleh karena itu MAE memiliki kelebihan

dalam mengekstrak senyawa fenolik dari kulit ari kacang dibanding SE yaitu MAE hanya membutuhkan waktu ekstraksi yang singkat, *solvent* (pelarut) yang sedikit dan energi listrik yang kecil (Ballard, 2008)

Perlakuan dengan *microwave* akan mempengaruhi struktur sel akibat kenaikan suhu yang tiba-tiba dan meningkatkan tekanan internal. Selama proses dinding sel pecah, analit yang akan diekstrak keluar dari sel dan dapat berdifusi cepat ke dalam pelarut.

Menurut Agnes *et al.*, 2013, ekstraksi juga dapat dilakukan dengan menggunakan *domestic microwave* yang umumnya dijual di pasaran. Metode DMME merupakan metode ekstraksi dengan menggabungkan ekstraksi dengan *domestic microwave* dan perendaman (*maceration*) dalam pelarut. Metode ini dilakukan karena *domestic microwave* yang ada di pasaran memiliki kekurangan yaitu tidak dapat mengontrol suhu dan tekanan. *Microwave* yang memiliki kontrol suhu dan tekanan harganya jauh lebih mahal. Oleh karena itu dibutuhkan pengaturan batas maksimum waktu ekstraksi pada *domestic microwave* untuk menjaga suhu tetap di bawah titik didih pelarut untuk alasan keselamatan kerja jika pelarut seperti etanol menguap dan terbakar akibat radiasi *microwave*. Diperlukan uji pendahuluan untuk menentukan variasi waktu agar titik didih pada pelarut tidak melebihi batas. Metode DMME ini mempunyai keuntungan yaitu waktu ekstraksi yang lebih cepat daripada ekstraksi menggunakan SE. Dengan merujuk hasil dari peneliti terdahulu, maka ekstraksi kulit ari kacang tanah akan dilakukan dengan irradiasi microwave.

Radiasi dapat diartikan sebagai energi yang dipancarkan dalam bentuk partikel atau gelombang tanpa media. Menurut Winarno *et al.*, (1980), iradiasi adalah teknik penggunaan energi untuk penyinaran bahan dengan menggunakan sumber iradiasi buatan. Ekstraksi dengan menggunakan irradiasi microwave pada penelitian ini merupakan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Gelombang mikro merupakan gelombang elektromagnetik yang memiliki energi tertentu yang ditimbulkan oleh gelombang mikro dengan frekuensi 0,3-300 GHz. (Delazar *et al.*, 2012)

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal yang diungkapkan di atas, maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana cara mengidentifikasi senyawa fenolik secara kualitatif ?
2. Bagaimana pengaruh jenis pelarut, perbandingan jumlah sampel dan pelarut, terhadap *Total Phenolic Content* (TPC) pada kulit ari kacang tanah ?
3. Berapa persen aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit ari kacang tanah dengan *Total Phenolic Content* (TPC) terbesar ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini antara lain :

1. Mengidentifikasi senyawa fenolik pada kulit ari kacang tanah secara kualitatif.
2. Menentukan pengaruh jenis pelarut, perbandingan jumlah sampel dan pelarut, terhadap *Total Phenolic Content* (TPC) pada kulit ari kacang tanah
3. Menentukan persen aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit ari kacang tanah dengan *Total Phenolic Content* (TPC) terbesar.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagi Peneliti:

Sebagai acuan untuk mendapatkan TPC terbesar dari ekstrak kulit ari kacang tanah sebagai sumber antioksidan alami.

2. Bagi Masyarakat:

- 1) Dapat mengurangi limbah kulit ari kacang tanah.
- 2) Dapat mengaplikasikan kulit ari kacang tanah sebagai obat herbal.
- 3) Dapat mengaplikasikan kulit ari kacang tanah sebagai olahan yang dapat dijual atau dikonsumsi sendiri.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*)

Kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) merupakan salah satu tanaman pangan yang memiliki sumber protein nabati yang cukup penting di Indonesia. Menurut data Badan Pusat Statistik (2009), permintaan kacang tanah dalam negeri pada tahun 2010 diperkirakan mencapai 1,9 juta ton dengan tingkat ketersediaan produksi 779.607 ton. Impor (kacang tanah non kulit) paling banyak 76% dari India, 12% dari China, 5% dari Mozambik, dan sisanya dari Malaysia dan Afrika Selatan.



**Gambar 1.** Kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*)

Berikut adalah klasifikasi kacang :

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Magnoliophyta</i>
Ordo	: <i>Leguminales</i>

Famili	: <i>Fabaceae</i>
SubFamili	: <i>Faboideae</i>
Bangsa	: <i>Aeschynomeneae</i>
Genus	: <i>Arachis</i>
Species	: <i>Arachis hypogaea L.</i>

Kacang tanah terdiri dari kulit (shell) 21% - 29%, daging biji (kernel) 69% - 72,40%, dan lembaga (germ) 3,10% - 3,6%. Kacang tanah mengandung protein yang tinggi, zat besi, vitamin E dan kalsium, vitamin B kompleks dan fosforus, vitamin A dan K, lesitin, kolin, kalsium, Omega 3, Omega 9. Dalam 1 ons kacang tanah terdapat 18 gram Omega 3 dan 17 gram Omega. Kacang tanah juga mengandung fitosterol yang justru dapat menurunkan kadar kolesterol dan level trigliserida, dengan cara menahan penyerapan kolesterol dari makanan yang disirkulasikan dalam darah dan mengurangi penyerapan kembali kolesterol dari hati, serta tetap menjaga HDL kolesterol. Kacang tanah juga mengandung arginin yang dapat merangsang tubuh untuk memproduksi nitrogen monoksida yang berfungsi untuk melawan bakteri tuberculosis. (Ningsih, 2011)

## 2.2 Kulit Ari Kacang Tanah

Kulit ari kacang tanah merupakan kulit yang terdapat didalam kulit kacang tanah. Kulit ari kacang tanah berwarna merah dan strukturnya tipis. Kulit ari kacang tanah dapat juga dikonsumsi, tetapi pada pedagang kacang goreng, kulit ari tidak dimanfaatkan dan menjadi limbah yang tidak memiliki fungsi. Padahal kulit ari kacang tanah dapat dimanfaatkan sebagai minuman isotonic dengan cara merebus kulit ari kacang tanah, dan air rebusan kulit ari dapat diminum. Minuman

isotonik merupakan minuman yang memiliki tekanan osmotik yang sama dengan tekanan darah manusia, minuman isotonik yang dijual di pasaran biasanya sudah dilengkapi dengan vitamin plus. Fungsi minuman isotonik adalah mengganti cairan tubuh manusia yang hilang dan juga menambah tenaga serta mengganti ion tubuh yang hilang saat beraktivitas. Komposisi minuman isotonik adalah 98% air, dua persen lainnya berupa ion natrium klorida, kalium fosfat, magnesium sitrat, dan kalsium laktat (Arimbi, 2010).

<b>Phenolic compound</b>	<b>Skin</b>	<b>Hull</b>	<b>R K F</b>	<b>Raw kernel</b>
P-hydroxybenzoic acid	13.08 ± 1.53 <sup>b</sup>	146.00 ± 34.00 <sup>a</sup>	169.00 ± 12.73 <sup>a</sup>	157.00 ± 8.11 <sup>a</sup>
Chlorogenic acid	21.95 ± 7.35 <sup>a</sup>	ND	2.20 ± 0.11 <sup>b</sup>	2.42 ± 0.06 <sup>b</sup>
P-coumaric acid	58.80 ± 4.50 <sup>a</sup>	ND	40.67 ± 7.90 <sup>b</sup>	35.00 ± 2.83 <sup>b</sup>
Ferulic acid	39.82 ± 0.22	ND	ND	ND
Resveratrol	2.99 ± 0.67 <sup>a</sup>	3.09 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.22 <sup>b</sup>	0.10 ± 0.04 <sup>b</sup>
Epicatechin	159.60 ± 11.28	ND	ND	ND
Quercetin	17.72 ± 1.65 <sup>a</sup>	ND	13.10 ± 2.40 <sup>b</sup>	12.40 ± 1.28 <sup>b</sup>
Luteolin	ND	1071.50 ± 77.00	ND	ND
Kaempferol	ND	ND	1.27 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.59 ± 0.33 <sup>a</sup>

**Tabel 1.** Kandungan senyawa pada kulit kacang tanah, kulit ari kacang tanah dan kacang tanah

Kulit ari kacang tanah mengandung beberapa senyawa fenolik yang kaya antioksidan diantaranya asam *p*-hidroksi benzoat, resveratrol dan luteolin. (Win *et al.*, 2011)

Menurut Yu *et al.*, (2007), kulit ari kacang tanah juga mangandung katekin dan prosianidin. Makanan yang kaya prosianidin dapat menurunkan / menghambat peroksidasi lipid kolesterol LDL dan meningkatkan kapasitas radikal bebas. Ekstrak kulit ari kacang tanah dapat digunakan sebagai suplemen makanan (nutraceutical) untuk mencegah penyakit kronis seperti kanker, penyakit jantung, rambut rontok, dan radang, bahan makanan fungsional, sebagai alami antioksidan untuk mencegah oksidasi minyak / lemak yang mengandung produk makanan dan

agen antimikroba alami untuk menghambat pertumbuhan patogen makanan. Senyawa Fenolik pada kulit ari kacang tanah merupakan antioksidan ampuh untuk pencegahan penyakit yang disebutkan di atas karena kandungan prosianidin tinggi. (Yu *et al.*, 2007)

### 2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan komponen dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi padat cair atau *leaching* adalah transfer difusi komponen terlarut dari padatan inert ke dalam pelarutnya. Ekstraksi dari bahan padat dapat dilakukan jika bahan yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengekstraksi. (Lucas *et al.*, 1949)

Mekanisme yang berlangsung selama proses ekstraksi padat-cair dapat diuraikan sebagai berikut:

1. Pelarut bercampur dengan padatan sehingga permukaan padatan dilapisi oleh pelarut.
2. Terjadi difusi massa pelarut pada permukaan padatan ke dalam pori padatan inert tersebut. Laju difusi ini tergolong lambat karena pelarut harus menembus dinding sel padatan.
3. Solut yang terdapat dalam padatan larut dalam pelarut.
4. Campuran solut dalam pelarut berdifusi keluar dari permukaan padatan dan bercampur dengan pelarut.

## 2.4 *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

Ekstraksi padat cair dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Ekstraksi dengan MAE merupakan teknik ekstraksi yang relatif baru, di mana *microwave* bekerja dengan memancarkan radiasi gelombang elektromagnetik non ionik yang berada di antara frekuensi 300 MHz hingga 300 GHz. (Tatke *et al.*, 2011)

*Microwave* memanaskan molekul melalui dua fenomena yaitu konduksi ionik dan rotasi dipol. Ketika *microwave* berinteraksi dengan pelarut polar, pemanasan substansi disebabkan oleh salah satu dari dua fenomena di atas. Pergerakan ion yang elektroforetik di bawah pengaruh perubahan medan listrik disebut konduksi ionik. Jika larutan melakukan sebuah tahanan terhadap pergerakan ion dan friksi pun terjadi maka larutan menjadi panas. Penyusunan kembali dipol dari molekul karena perubahan medan listrik yang sangat cepat disebut rotasi dipole. (Tatke *et al.*, 2011)

Pada frekuensi 2.450 MHz (dengan panjang gelombang 12,24 cm) proses pemanasan terjadi. *Microwave* merubah komponen elektrik pada kecepatan  $4,9 \times 10^4$  kali/detik. Terjadi pembentukan panas akibat gaya friksi ketika molekul-molekul pelarut mencoba untuk menyusun kembali diri mereka untuk menyesuaikan perubahan medan listrik, namun mereka gagal menyusunnya kembali. Panas tidak terjadi ketika frekuensi lebih dari 2.450 MHz dan komponen elektrik berubah pada kecepatan yang lebih besar. Panas juga tidak terjadi ketika frekuensi kurang dari 2.450 MHz dan perubahan komponen elektrik yang terjadi lebih lambat. Jadi dapat disimpulkan bahwa, hanya material atau pelarut dielektrik

yang memiliki dipol permanen (memiliki sebuah muatan positif pada satu sisi dan sebuah muatan negatif di sisi lainnya) yang dapat mengalami pemanasan oleh *microwave*. (Tatke *et al.*, 2011)

Suhu yang lebih tinggi yang dicapai oleh radiasi *microwave* dapat menghidrolisis ikatan eter dari selulosa, yang merupakan konstituen utama dari dinding sel tanaman, dan dapat dikonversi menjadi fraksi larut dalam 1 sampai 2 menit. Temperatur yang lebih tinggi dicapai oleh dinding sel selama MAE, meningkatkan dehidrasi selulosa dan mengurangi kekuatan mekanik dan membantu pelarut untuk mudah masuk mengekstraksi senyawa di dalam sel. (Mandal *et al.*, 2007)

Perlakuan dengan *microwave* mempengaruhi struktur sel akibat kenaikan suhu yang tiba-tiba dan meningkatkan tekanan internal. Selama proses dinding sel pecah, analit yang akan diekstrak keluar dari sel dan dapat berdifusi cepat ke dalam pelarut. Ekstraksi dengan MAE ini dapat meningkatkan kecepatan transfer massa zat terlarut dari matriks sampel ke dalam pelarut. (Mandal *et al.*, 2007)

Mekanisme berdasarkan MAE mengekspos analit dengan pelarut melalui pecahnya sel. Hal ini berbeda dari ekstraksi refluks yang bergantung pada serangkaian proses permeasi dan solubilisasi untuk membawa analit keluar dari matriks. (Mandal *et al.*, 2007)

MAE dibandingkan metode ekstraksi yang lain memiliki beberapa kelebihan antara lain:

- 1) MAE dapat menyelesaikan ekstraksi dalam beberapa menit, lebih cepat dibandingkan metode ekstraksi yang lain.

- 2) Penggunaan *solvent* yang sedikit sehingga mengurangi biaya pembelian pelarut dan pembuangan sisa pelarut.
- 3) MAE menghasilkan ekstrak dengan *yield* lebih besar daripada metode ekstraksi yang lain.
- 4) MAE menggunakan energi listrik lebih kecil dibandingkan metode ekstraksi yang lain.

#### **2.4.1 Faktor-faktor yang Berpengaruh Terhadap Metode Ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE) (Mandal *et al.*, 2007)**

##### **1. Volume pelarut**

Volume pelarut harus cukup untuk memastikan bahwa solid selalu terendam dalam seluruh pelarut selama iradiasi berlangsung. Semakin tinggi volume pelarut maka semakin besar *yield* yang dihasilkan dalam metode ekstraksi konvensional. Namun, dalam MAE semakin tinggi volume pelarut maka semakin kecil *yield* yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena dengan jumlah pelarut yang jauh lebih banyak dibandingkan jumlah solid yang sedikit, pelarut akan lebih banyak menyerap energi *microwave* yang besar untuk menaikkan suhunya, sedangkan solid hanya menyerap sisa energi *microwave* yang ada. Hal ini menyebabkan tidak semua senyawa fenolik dapat keluar dari sel kulit kacang sehingga senyawa fenolik tidak dapat terekstrak dengan sempurna.

##### **2. Waktu radiasi**

Semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan waktu radiasi dalam *microwave* semakin lama sehingga pelarut akan menyerap energi

*microwave* yang lebih banyak. Namun dengan waktu radiasi yang terlalu lama maka analit akan terdegradasi oleh panas yang dihasilkan oleh energi *microwave*. Oleh karena itu, ekstraksi MAE harus dilakukan dengan waktu radiasi yang optimum.

### **3. Power *microwave***

Semakin besar power *microwave* yang digunakan dalam ekstraksi MAE, maka semakin cepat pecahnya dinding sel karena jika digunakan power yang lebih tinggi maka suhu akan naik dengan cepat, sehingga analit yang diinginkan lebih cepat keluar dari dalam sel dan berdifusi ke dalam pelarut. Besar power *microwave* harus dipilih dengan benar untuk menghindari kenaikan suhu yang sangat tinggi, yang dapat menyebabkan analit terdegradasi.

### **4. Ukuran partikel**

Semakin kecil ukuran partikel berarti semakin besar luas permukaan kontak antara partikel dan pelarut selama iradiasi dalam ekstraksi MAE.

### **5. Suhu**

Semakin tinggi suhu ekstraksi berarti semakin besar tekanan internal pada sel partikel sehingga dinding sel dapat pecah dan analit dari dalam sel akan keluar larut dalam pelarut. Pada ekstraksi MAE diperlukan suhu yang optimum untuk menjaga agar analit tidak terdegradasi oleh panas yang dihasilkan energi *microwave*.

## 2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah komponen yang dapat mencegah atau menghambat oksidasi lemak, asam nukleat, atau molekul lainnya dengan mencegah inisiasi atau perkembangan pengoksidasi melalui reaksi berantai. Sayuran dan buah-buahan merupakan bahan pangan yang kaya akan antioksidan. Beberapa studi menyebutkan bahwa dengan mengkonsumsi sayuran dan buah-buahan segar dapat menurunkan resiko terkena kanker dan berbagai penyakit degeneratif lainnya (Wang *et al.*, 1997).

Dalam kehidupan sehari-hari, manusia tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas, asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari yang berlebih, asap kendaraan bermotor, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara yang merupakan sumber pembentuk senyawa radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel, melalui reaksi oksidasi (Pietta, 1999). Oksidasi yang berlebihan terhadap asam nukleat, protein, lemak, dan DNA sel dapat menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi, dan kanker (Leong *et al.*, 2002 & Pietta, 1999). Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001).

Menurut Halliwell (2006), senyawa radikal yang terdapat dalam tubuh berasal dari luar tubuh (eksogen) maupun dari dalam tubuh (endogen) yang

terbentuk dari hasil metabolisme zat gizi secara normal. Dalam proses fisiologis timbulnya senyawa radikal bebas (pro-oksidan) akan diimbangi oleh mekanisme pertahanan endogen dengan menggunakan zat (senyawa) yang mempunyai kemampuan sebagai anti radikal bebas, yang juga disebut antioksidan. Senyawa ROS (*Reactive Oxygen Species*) memberikan efek merusak bila keseimbangan antara oksidan dan antioksidan terganggu. Keseimbangan ini tergantung pada konsumsi pangan yang membawa asam-asam amino esensial dalam jumlah yang diperlukan untuk mensintesis protein serta zat gizi lain yang diperlukan. Walaupun secara teoritis senyawa radikal di dalam tubuh dapat dihilangkan apabila terdapat antioksidan, tetapi efisiensi penghilangan senyawa radikal ini tidak pernah mencapai 100%.

Menurut Halliwell (2006), reaksi-reaksi yang melibatkan senyawa radikal merupakan asal dari berbagai macam penyakit, antara lain ginjal, diabetes, kanker, dan penyakit kardiovaskular. Pada individu yang sehat, keberadaan pro-oksidan dapat diimbangi dengan adanya antioksidan. Akan tetapi pada keadaan tertentu keseimbangan tersebut dapat terganggu, karena jumlah pro-oksidan lebih banyak dibandingkan dengan antioksidan. Oleh karena itu, penting sekali untuk meningkatkan kadar antioksidan di dalam tubuh, dan hal ini dapat dilakukan dengan meningkatkan konsumsi antioksidan alami.

Antioksidan terdiri dari dua macam, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Contoh antioksidan sintetis adalah Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat, Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ), dan tokoferol. (Win *et al.*, 2011)

## 2.5.1 Antioksidan Alami

### 2.5.1.1 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang tersebar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotic. (Waji *et al.*, 2009)

Flavonoid merupakan sekelompok besar antioksidan bernama polifenol yang terdiri dari calkon, flavan, katekin, flavanon, flavanonol, flavon, flavonol, antosianidin. Beberapa flavonoid pada umumnya yaitu apigenin, chrysin, luteolin, datiscetin, quercetin, myricetin, morin dan kaemferol. Flavonoid dapat menghambat oksidasi lipid. Flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan dengan menghambat radikal anion superoksida, radikal *peroxyl lipid*, dan radikal hidroksil. (Achmad, 1986)

### 2.5.1.2 Turunan asam sinamat

Turunan asam sinamat meliputi asam *p*-hydroxibenzoik, 3,4-dihydroxibenzoik, vanillic, siringit, *p*-kumarat, kafeat, ferulat, sinapat, klorogenik, and rosmarinik. Asam-asam tersebut tersebar di seluruh kingdom tanaman. (Win *et al.*, 2011)

### **2.5.1.3 Kumarin**

Kumarin merupakan senyawa metabolit sekunder berupa minyak atsiri yang terbentuk terutama dari turunan glukosa nonatsiri saat penuaan atau pelukaan. Senyawa kumarin dan turunannya banyak memiliki aktivitas biologis diantaranya sebagai antikoagulan darah, antibiotik dan ada juga yang menunjukkan aktivitas menghambat karsinogenik.

### **2.5.1.4 Tokoferol (Vitamin E)**

Tokoferol tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut lemak seperti minyak, lemak, alkohol, aseton, eter dan sebagainya. Karena tidak larut dalam air, vitamin E dalam tubuh hanya dapat dicerna dengan bantuan empedu hati, sebagai pengelmulsi minyak saat melalui duodenum.

Tokoferol mudah didapat dari bagian bahan makanan yang berminyak atau sayuran. Tokoferol banyak terdapat pada buah-buahan, susu, mentega, telur, sayur-sayuran, terutama kecambah. Contoh sayuran yang paling banyak mengandung vitamin E adalah minyak biji gandum, minyak kedelai, minyak jagung, alfalfa, selada, kacang-kacangan, asparagus, pisang, strawberry, biji bunga matahari, buncis, ubi jalar dan sayuran berwarna hijau. Vitamin E lebih banyak terdapat pada makanan segar yang belum diolah.

Sebagai antioksidan, vitamin E berfungsi melindungi senyawa-senyawa yang mudah teroksidasi, antara lain ikatan rangkap dua pada UFA (*Unsaturated Fatty Acid*), DNA dan RNA dan ikatan atau gugus – SH (sulfhidril) pada protein. Apabila senyawa-senyawa tersebut teroksidasi, maka akan terbentuk "radikal bebas", yang merupakan hasil proses peroksidasi. Radikal bebas yang terjadi akan

mengoksidasi senyawa-senyawa protein, DNA, RNA dan UFA. Vitamin E akan bertindak sebagai reduktor dan menangkap radikal bebas tersebut.

#### **2.5.1.5 Asam-asam organik polifungsional**

Asam organik adalah senyawa organik yang mempunyai derajat keasaman. Asam-asam organik ini bersifat multifungsional dan dapat bereaksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pembentuk kompleks logam, dan peredam terbentuknya oksidasi.

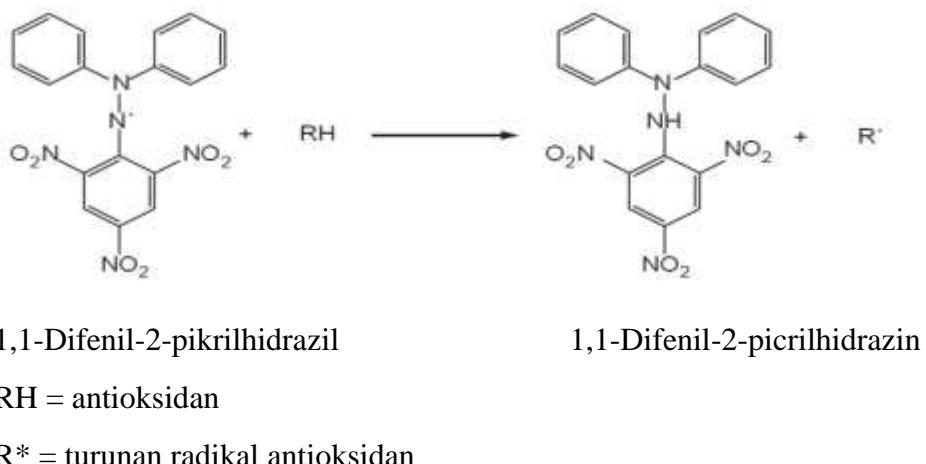
### **2.6 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH**

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan antioksidan untuk menghambat aktivitas radikal bebas. (Andayani *et al.*, 2008). Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit kacang tanah menggunakan metode serapan radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrylhydrazyl). Aktivitas antioksidan dari sampel dinyatakan dalam *% inhibisi* terhadap radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas yang dinyatakan dalam persen (%). *% inhibisi* ini diperoleh dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH (kontrol) dengan absorban sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS yang dinyatakan dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

Larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu setelah bereaksi dengan antioksidan alami akan membentuk warna kuning. Semakin tinggi kandungan antioksidan maka warna ungu pada larutan DPPH akan semakin berkurang dan membentuk warna kuning. Dalam uji ini metanol berfungsi sebagai pelarut,

sedangkan inkubasi pada suhu 37 C dimaksudkan untuk mengoptimalkan aktivitas DPPH. Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organic terpusat adalah radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk nonradikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Yu, 2008)



**Gambar 2.** Mekanisme kerja DPPH

Mekanisme kerja dari antioksidan tersebut yaitu :

1. Pemberi atom hydrogen (anti oksidan primer). Senyawa ini dapat memberikan atom hydrogen secara cepat ke radikal lipida ( $R^*$ ,  $ROO^*$ ) atau mengubahnya kebentuk yang lebih stabil, sementara turunan dari radikal antioksidan ( $A^*$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan dengan radikal lipida.
2. Memperlambat laju antioksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai antioksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil.

## 2.7 Uji Antioksidan Menggunakan Metode IC<sub>50</sub>

Pengujian antioksidan dengan metode IC<sub>50</sub> ini untuk mengetahui konsentrasi dari antioksidan yang harus ditambahkan sehingga dapat menghambat aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Konsentrasi dari antioksidan tersebut merupakan ukuran kuantitatif yang menunjukkan berapa banyak antioksidan yang diperlukan untuk menghambat proses biologis tertentu, salah satunya aktivitas radikal bebas hingga setengahnya. Dengan kata lain, IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi suatu zat antioksidan yang menghambat (IC) suatu zat radikal bebas sebesar 50%. Pengujian dengan metode ini biasanya digunakan sebagai ukuran potensi antagonis obat dalam penelitian farmakologis. (Pourmorad *et al.*, 2006)

Sampel antioksidan dilarutkan dalam pelarut metanol dengan konsentrasi yang bervariasi, ditambah dengan DPPH (sebagai sumber radikal bebas), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, lalu diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. (Yen *et al.*, 1995)

Dari hasil pengukuran tersebut dapat diketahui persentase aktivitas antioksidan menghambat radikal bebas. Hasil tersebut dibuat kurva linier persentase aktivitas antioksidan versus konsentrasi antioksidan sehingga didapatkan persamaan linier untuk menentukan jumlah konsentrasi antioksidan untuk dapat menghambat aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Semakin rendah konsentrasi antioksidan untuk menghambat aktivitas radikal bebas sebesar 50%, maka efektivitas keseluruhan dari antioksidan tersebut semakin besar. (Pourmorad *et al.*, 2006)

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Variabel Penelitian**

##### **3.1.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang nilainya divariasi. Sesuai dengan tujuan penelitian yang ingin dicapai, maka variabel bebas dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Jenis pelarut (air, etanol 70 %, etanol 96 %)
2. Perbandingan jumlah sampel kulit ari kacang tanah dan pelarut ( 1:10, 1:20 ) gr/mL

##### **3.1.2 Variabel Tetap**

Variabel tetap dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ukuran partikel serbuk kulit ari kacang = 50 mesh
2. Volume pelarut: 100 mL
3. Waktu: 80 detik

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain microwave (HOME), neraca analitik, oven, ayakan 50 mesh, spektrofotometer (Shimadzu UV-Vis 1240), blender, *magnetic stirrer*, alat-alat gelas dan kertas saring.

### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ari kacang tanah, diperoleh dari *home industry* di daerah Semarang, kloroform, serbuk Mg, HCl pekat,  $\text{FeCl}_3$  1%, anhidrida asam asetat, asam sulfat pekat, etanol 70% ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) teknis, etanol 96 % ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) teknis, natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) p.a, methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) p.a, asam galat ( $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH}$ ) sigma, reagen folin-ciocalteu, aquades, DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil)  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$

## 3.3 Prosedur Penelitian

### 3.3.1 Persiapan Bahan Baku Serbuk Kulit Ari Kacang

Pada tahap persiapan bahan baku, kulit ari kacang tanah, dapat langsung dikupas kulit ari nya dengan dipisahkan dari biji kacangnya. Kulit ari kacang tanah dihancurkan menjadi serbuk menggunakan blender. Kemudian serbuk kulit ari kacang tanah diayak. Sehingga diperoleh serbuk kulit ari kacang tanah.

### 3.3.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia terhadap kulit ari kacang tanah untuk uji flavonoid, saponin, dan fenolat dilakukan dengan menimbang sampel serbuk sebanyak 4 gram, kemudian dididihkan sampai mendidih dan disaring panas-panas (Fransworth, 1966).

#### 3.3.2.1 Uji Saponin

Sampel yang sudah dididihkan dengan aquades diambil 5 mL, digojog dengan kuat secara vertikal, diamati busa yang terbentuk. Kemudian ditambah HCl 1 tetes. Jika tetap terbentuk busa maka hal itu menunjukkan positif mengandung saponin.

### **3.3.2.2 Uji Fenolat / Tanin**

Sampel yang sudah dididihkan dengan aquades diambil 5 mL kemudian ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman maka menandakan tanin secara umum.

### **3.3.2.3 Uji Flavonoid**

Sampel yang sudah dididihkan dengan aquades diambil 5 mL kemudian ditambahkan potongan Mg. Kemudian ditambahkan 1ml HCl pekat dan dilakukan pengocokan. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, kuning atau jingga.

### **3.3.2.4 Uji Alkaloid**

Serbuk sampel kemudian ditambahkan kloroform 20 mL, disaring dan filtrat ditambahkan HCl 10%, kemudian diekstraksi. Hasil ekstraksi ini akan terbentuk dua lapisan. Lapisan atas merupakan lapisan HCl dan lapisan bawah merupakan kloroform. Lapisan HCl kemudian diambil masing-masing 5 mL ke dalam tabung reaksi. Untuk tabung reaksi 1 ditambahkan pereaksi Dragendorff dan untuk tabung reaksi 2 ditambahkan pereaksi Meyer. Untuk penambahan Dragendorff jika terbentuk endapan merah bata yang menunjukkan positif alkaloid, sedangkan untuk penambahan Meyer jika terbentuk endapan putih yang menunjukkan positif alkaloid.

### **3.3.2.5 Uji Steroid/Triterpenoid**

Pada uji steroid menggunakan ekstrak pekat sampel. Kemudian ditambahkan klorofom:air (1:1) masing-masing 5 mL akan terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas merupakan lapisan air dan lapisan bawah merupakan lapisan

kloroform. Untuk lapisan kloroform ditambahkan arang aktif dan kemudian dipindahkan ke dalam plat tetes dan ditambahkan 1 tetes anhidrida asam asetat dan asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna biru atau ungu maka menunjukkan steroid dan jika terbentuk cincin warna merah maka menunjukkan adanya terpenoid.

### 3.3.3 Ekstraksi Kulit Ari Kacang Tanah (Agnes *et al.*, 2013)

Proses ekstraksi dilakukan pada berbagai perbandingan jenis pelarut, jumlah sampel dan pelarut. Sebanyak 10 gram serbuk kulit ari kacang tanah diletakkan ke *beaker glass*, kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 100 mL. *Beaker glass* ditutup dengan *cling wrap* yang telah dilubangi sebanyak 10 lubang kecil dengan jarum. Ekstraksi dilakukan selama 80 detik. Campuran hasil ekstraksi disaring untuk memisahkan padatan dan cairan, kemudian cairan diuapkan dengan evaporator pada suhu 50°C, diperoleh ekstrak pekat.

Ekstrak diuji *Total Phenolic Content* (TPC) dengan metode *Folin-Ciocalteu*. Ekstraksi disini menggunakan waktu 80 detik. Setelah radiasi, 2 menit *microwave* dimatikan dan dilakukan maserasi dan pengadukan dengan *shaker* selama 1 menit saat *microwave* dimatikan. Ekstraksi dilakukan variasi jenis pelarut, dan jumlah pelarut (1:10, 1:20 g/mL). Perhitungan TPC :

$$\text{TPC} = \frac{c \cdot V}{m}$$

dengan :      TPC    = konsentrasi *total phenolic* (mg GAE/g ekstrak)

                  c       = konsentrasi gallic acid (mg/mL)

                  V       = volume larutan ekstrak serbuk kulit kacang (10 mL)

                  m       = massa ekstrak serbuk kulit kacang (gram)

Ekstrak dengan TPC terbesar dianalisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, kemudian diuji FTIR.

### **3.3.4 Pembuatan Reagen**

1. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (0,06 mg/mL) (Waterhouse, 1999)

Pembuatan larutan induk asam galat (0,06 mg/mL) yaitu dengan menimbang 0,003 g asam galat, kemudian dilarutkan dalam methanol dan dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL, ditambahkan metanol sampai tanda batas, dan dikocok hingga homogen.

2.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5 % (Waterhouse, 1999)

Pembuatan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5 % yaitu dengan menimbang 11,25 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan tambahkan 150 mL aquadest lalu didihkan kemudian diamkan selama 24 jam.

3. Larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Molyneux, 2004)

Pembuatan larutan DPPH yaitu dengan menimbang sebanyak 2,1mg DPPH dan dilarutkan dengan metanol di dalam labu sampai 100 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50  $\mu\text{M}$

### **3.3.5 Analisis Kuantitatif *Total Phenolic Content***

#### **3.3.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Reagen Folin Ciocalteu (Waterhouse, ,1999)**

Pembuatan larutan induk asam galat (0,06 mg/mL) yaitu dengan menimbang 0,003 g asam galat, kemudian dilarutkan dalam methanol dan dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL, ditambahkan metanol sampai tanda batas, dan dikocok hingga homogen. Dari larutan induk dibuat konsentrasi 0,01 ; 0,02 ; 0,03 ; 0,04 ; 0,05 mg/mL.

Dari masing-masing konsentrasi diambil 1 mL, tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteau yang diencerkan dengan aquades 1:10 (v/v). Diamkan selama 8 menit, kemudian tambahkan 4 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pada masing-masing konsentrasi dan kocok hingga homogen. Diamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum, lalu buat kurva kalibrasinya hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorban.

#### ***3.3.5.2 Penentuan Kandungan Total Phenolic Content dengan Metoda Folin Ciocalteu (Orak, 2006)***

Penentuan Kandungan Fenol Total dilakukan dengan cara menimbang 0,01 gram sampel, kemudian dilarutkan ke dalam 1 mL metanol. Larutan diambil 1 mL dan dicampur dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteau yang diencerkan dengan aquades 1:10 (v/v). Diamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 4 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5 % kedalam campuran, diamkan larutan selama 2 jam pada suhu kamar. Diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm yang akan memberikan komplek biru. Kadar senyawa fenolik (TPC) diukur berdasarkan kurva baku asam galat dan dinyatakan sebagai mg Gallic Acid Equivalent /g ekstrak

#### **3.3.6 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Pertama-tama ekstrak serbuk kulit ari kacang tanah ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan dalam 25 mL methanol. Kemudian sampel dan pembanding dibuat konsentrasi masing-masing 0,3 ; 0,2 ; 0,1 mg/ml. Kemudian dipipet sebanyak 0,1 mL larutan sampel dengan pipet mikro, dimasukkan ke dalam labu takar. Tambahkan 3,9 mL larutan DPPH 50 µM. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap. Selanjutnya dilakukan pengukuran

absorbansi panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

Perhitungan persen penghambatan DPPH digunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

Ket :

Abs Kontrol : nilai serapan (Abs) larutan kontrol pada panjang gelombang optimum.

Abs Sampel : nilai serapan (Abs) larutan uji pada panjang gelombang optimum (Okawa *et al.*, 2001).

### **3.3.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode IC<sub>50</sub>**

*Inhibitor Concentration 50* (IC<sub>50</sub>) adalah konsentrasi efektif zat dalam sampel yang dapat menghambat 50 % absorbansi DPPH. Nilai IC<sub>50</sub> yaitu grafik hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman dibuat untuk selanjutnya dilakukan perhitungan nilai IC<sub>50</sub> berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh. IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi ekstrak yang menyebabkan pengurangan aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> menunjukan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar (Amrun *et al.*, 2007; Hanani *et al.*, 2005; Molyneux, 2004).

## **BAB 5**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Dari hasil analisis bahan baku kulit ari kacang tanah diketahui bahwa kulit kacang tanah memiliki kadar air sebesar 9,461%.
2. Dari hasil analisis identifikasi kulit ari kacang tanah secara kualitatif, bahwa kulit ari kacang tanah positif mengandung senyawa fenolat / tannin, flavonoid dan terpenoid.
3. Perbandingan sampel dan pelarut 1 : 10 (gr/mL), konsentrasi pelarut etanol 96% merupakan TPC terbesar (47,80 mg GAE/gram ekstrak)
4. Dari hasil analisis % aktivitas antioksidan, % aktivitas antioksidan kulit ari kacang tanah lebih besar dari BHA, dan lebih kecil daripada vitamin C. (kulit ari kacang tanah = 29,152%, BHA= 24,249%, vitamin C = 96,288%)
5. Daya aktivitas antioksidan ekstrak kulit ari kacang tanah lebih besar dibandingkan dengan BHA. ( kulit ari kacang tanah = 0,71793 mg ekstrak/mL methanol dan BHA = 1,12492 mg ekstrak/mL

#### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut dengan menggunakan instrumen lain seperti HPLC, LCMS, NMR dan sebagainya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek penambahan antioksidan alami bagi industri makanan maupun farmasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad S A. 1986. *Buku Materi Pokok Kimia Bahan Alam*. Penerbit Karunika Terbuka : Universitas Terbuka
- Agnes., L. O. Widjaja., A. Ayucitra, & N. Indraswati. 2013. Ekstraksi Kulit Petai sebagai Sumber Antioksidan Alami dengan Metode Domestic Microwave Maceration. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 11(5), 20: 237-242.
- Amrun, M., Umiyah, & E. Umayah. 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Pariasi Buah Kenitu (*Chrysophyllumcainito L.*) dari Daerah Jamber, Berk. *Panel. Hayati*, 13: 45-50
- Andayani, R., Lisawati, Y., dan Maimunah. 2008. *Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total, dan Likopen pada Buah Tomat (Solanum lycopersicum L)*. Sains dan Teknologi Farmasi. **13**(1): p. 31-37.
- Anonim. 2006. *Peanut Waste to Rival Grape Seed Extracts*. Tersedia di <http://www.nutraingredients.com/Research/Peanut-waste-to-rival-grape-seed-extracts>. [diakses 13 Juni 2014].
- Anonim. 2007. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Tersedia di <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/06003489.pdf>. [diakses 5 Agustus 2015]
- Ballard, T. S. 2008. *Optimizing the Extraction of Phenolic Antioxidant Compounds from Peanut Skins in Biological Systems Engineering*. Virginia: Polytechnic Institute and State University.
- Dai Jin, & Russel J. Mumper. 2010, Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Department of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy*, University of Kentucky, Lexington, USA, 15: 7313-7352.
- Delazar, A., L. Nahar., Hamedeyazdan, & S. D. Sarker. 2012. Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation. Di dalam Satyajit D. Sarker and Lutfun Nahar (eds.), *Natural Products Isolation, Methods in Molecular Biology*, 864. Springer Science : New York.
- Fransworth., Norman. R. 1966. Biological and Phytochemical Screening on Plant. *Journal of Pharmaceutical Science*, 55: 225-276.
- Gurav, S., N. Deshnkar., V. Gulkari., N. Duragkar, & A. Patil. 2007. Free Radical Scavenging Activity of *Polygala chinensis* Linn. *Pharmacologyonline*, 2: 245-253.

- Halliwell B. 2006. Reactive species and antioxidants: Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*. June 2006, 141: 312–322.
- Hanani, E., A. Mun'im, & R. Sekarini. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons Callyspongia sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3):127-133.
- Hatano, T., H. Kagawa., Yasuhara, & I. Okuda. 1988. Two New Flavonoids and Other Constituents in Licorice Roots: Their Relative Astringency and Radical Scavenging Effect. *Chem. Pharm. Bull.*, 36(6): 2090-2097.
- Hess, D. tt. Plant Physiology, Molecular, Biochemical, and Physiological Fundamentals of Metabolism and Development. *Toppan Company (S) Pte Ltd*, Singapore: 117-118
- Hoang, V. H., P. Apostolova., J. Dostalova., Pudil, & J. Pokorny. 2008. Antioxidant Activity of Peanut Skin Extracts from Conventional and High-Oleic Peanuts. *Czech J. Food Sci*, 26(6): 447-457.
- Kurniawan, E. 2012. Pengertian Senyawa Fenolik. Tersedia di <http://pemula-awaliharimu.blogspot.com/2012/11/pengertian-senyawa-fenolik.html>. [diakses 30 Juli 2014].
- Leong, L. P, & G. Shui., 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruit in Singapore Markets. *Food Chemistry*, 76: 69-75.
- Lucas, H.J, & D. Pressman. 1949. *Principles and Practice in Organic Chemistry*. New York: J. Wiley.
- Madhavi, D.L., R.S. Singhal, & P.R. Kulkarni. 1985. Technological Aspects of Food Antioxidants dalam D.L. Madhavi, S.S. Deshpande dan D.K. Salunkhe: *Food Antioxidant, Technological, Toxicological and Health Perspectives*. Marcel Dekker Inc., Hongkong: 161-265
- Mandal, V., Y. Mohan, & S. Hemalatha. 2007. *Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research*. Pharmacognosy Reviews. 1(1).
- Maslarova, N.V. Yanishlieva. 2001. Inhibiting oxidation dalam Jan Pokorny, Nedyalka Yanislieva dan Michael Gordon: *Antioxidants in food, Practical applications*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge: 22-70
- Marlinda, M. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Etanol Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill). *Jurnal MIPA UNSRAT*. Volume 1 Nomor 1.

- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *J.Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Ningsih, D. D. R. 2011. *Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.)*. Tugas Artikel. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Okawa, M., J. Kinjo., Nohara, & M. Ono. 2001. Modification Method DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained From Some Medicinal Plants. *Biol. Pharm. Bull.* 24(10): 1202-1205.
- Orak, H. H. 2006. Total Antioxidant Activities, Phenolics, Anthocyanins, Polyphenoloxidase Activities In Red Grape Varieties. *Electronic Journal of Polish Agricultural University Food Science and Technology*, 9: Issu – 118 htm.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medaltion Laboratories Analitycal Progres*, 19(2).
- Pietta, P. G. 1999. Flavonoids as Antioxidants. Review. *J. Nat. Prod.* 63(7): 1035-1042.
- Pourmorad, F., S. J. Hossenimehr, & N. Shahabimajd, 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11): 1142-1145.
- Rahayu, A. D., & T. Wulandari. 2010. Minuman Isotonik Kulit Ari Kacang Tanah. <http://merahputihmajalahpendidikan.wordpress.com/2010/08/02/minuman-isotonik-kulit-ari-kacang-tanah/>. [diakses 30 Juli 2014].
- Sultana, B., Anwar, & R. Przybyski. 2007. Antioxidant Potential of Corncob Extracts for Stabilization of Corn Oil Subjected To Microwave Heating. *Food Chemistry*, 104(3): 997-1005.
- Tatke, P, & Y. Jaiswal. 2011. An Overview of Microwave Assisted Extraction and its Applications in Herbal Drug Research. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5 (1): 21-31.
- Waji, R. A, & A. Sugrani. 2009. *Flavonoid (Quercentin)*. FMIPA: Universitas Hasanuddin.
- Wang, H., Cao, & R. L. Prior. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J Agric Food Chem*, 45(2): 304-309.
- Waterhouse, A. 1999. Folin Ciocalteu Micro Method For Total Phenol in Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 1–3

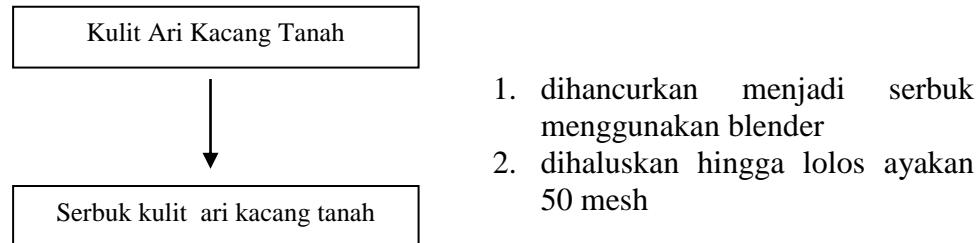
- Wee, J. H., J. H. Moon., J. B. Eun., J. H. Chung., Kim, & K.H Park. 2007. Isolation and Identification of Antioxidants from Peanut Shells and the Relationship between Structure and Antioxidants Activity. *Food Sci. Biotechnol.*, 16(1): 116-122.
- White, P.J, & Y. Xing. 1954. Antioxidants from Cereals and Legumes dalam Foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Applications. *AOCS Press, Champaign, Illinois*: 25-63
- Win, M. M., A. A. Abdul., B. S. Baharin., F. Anwar., Sabu, & M. S. Pak-Dek. 2011. Phenolic Compounds And Antioxidant Activity Of Peanut's Skin, Hull, Raw Kernel and Roasted Kernel Flour. *Pak. J. Bot.* 43(3): 1635-1642.
- Winarno, F. G., S. Fardiaz, & D. Fardiaz, 1980. *Pengantar Teknologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yen, G.C, & Chen, H.Y. 1995. Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43: 27-32
- Yu, L. 2008. Wheat Antioxidants. *United States of America*: Wiley.
- Yu, J., Mohamed, & I. Goktepe. 2007. Peanut Skin Phenolics: Extraction, Identification, Antioxidant Activity and Potential Applications. *Antioxidant Measurement and Applications* 16: 226-241

## LAMPIRAN

### Lampiran 1

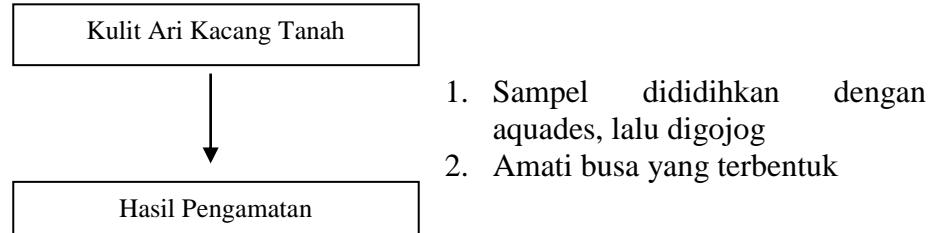
#### Skema Kerja Penelitian

##### 1. Persiapan Bahan Baku Serbuk Kulit Ari Kacang

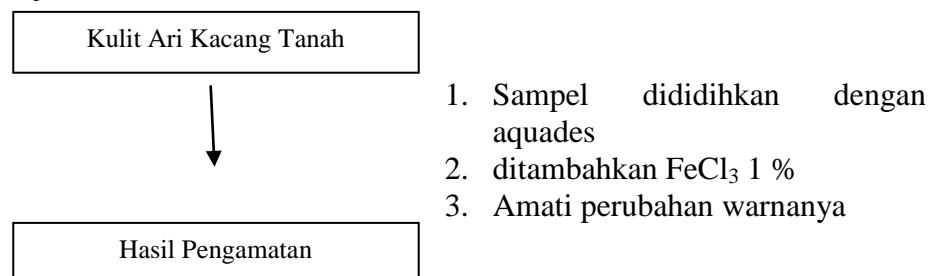


##### 2. Uji Fitokimia

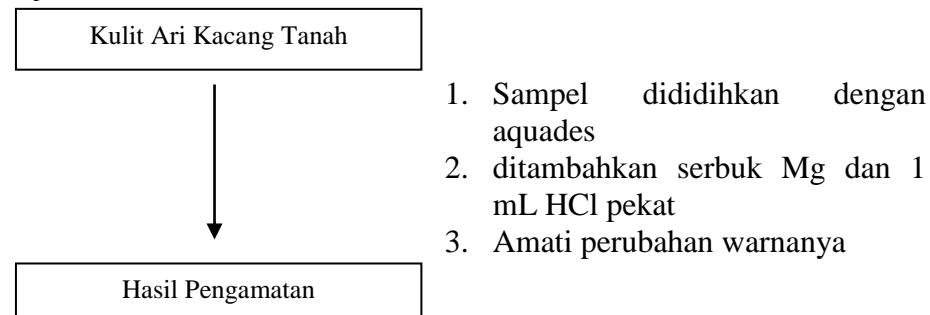
###### a. Uji Saponin



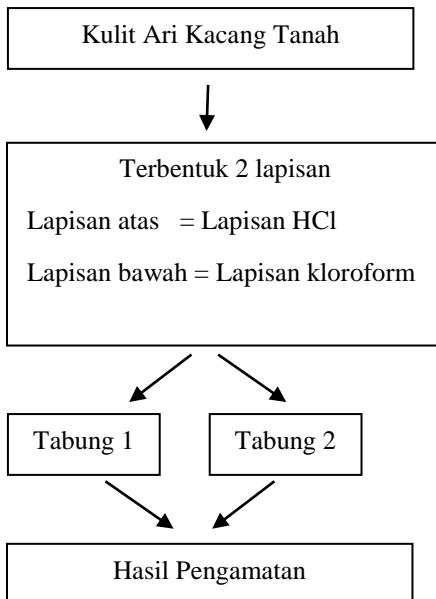
###### b. Uji Fenolat / Tannin



###### c. Uji Flavonoid

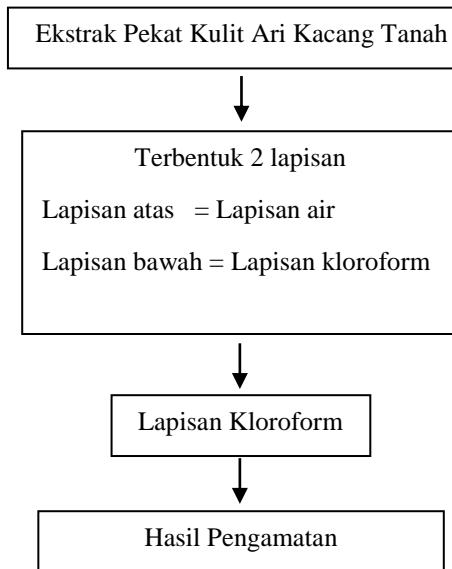


d. Uji Alkaloid



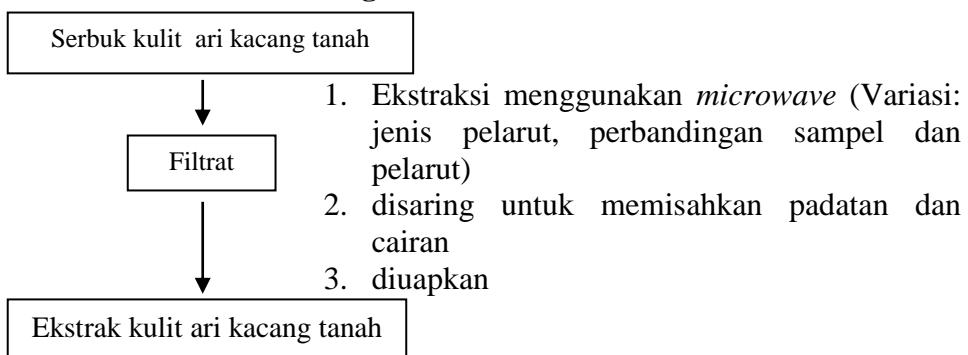
1. Sampel ditambahkan 20 mL kloroform
2. Disaring, kemudian ditambahkan HCl 10%
3. Lapisan HCl masing-masing diambil 5 mL
4. Tabung 1, ditambahkan pereaksi Dragendorff
5. Tabung 2, ditambahkan pereaksi Meyer
6. Amati perubahan warnanya

e. Uji Steroid / Triterpenoid



1. Ekstrak pekat ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL air
2. Lapisan kloroform ditambahkan arang aktif
3. ditambahkan 1 tetes anhidrida asam asetat dan asam sulfat pekat

### 3. Ekstraksi Kulit Ari Kacang Tanah



#### 4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Larutan induk asam galat (0,06 mg/mL)

1. 0,003 gram asam galat dilarutkan dalam 50 mL metanol
2. Dipipet 1 ml tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteau yang diencerkan dengan aquades 1:10 (v/v)
3. Didiamkan selama 8 menit, tambahkan 4 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, kocok homogen
4. Diamkan selama 2 jam pada suhu ruang
5. Diukur serapan pada panjang gelombang 750-780 nm menggunakan spektrofotometer

Panjang Gelombang Maksimum

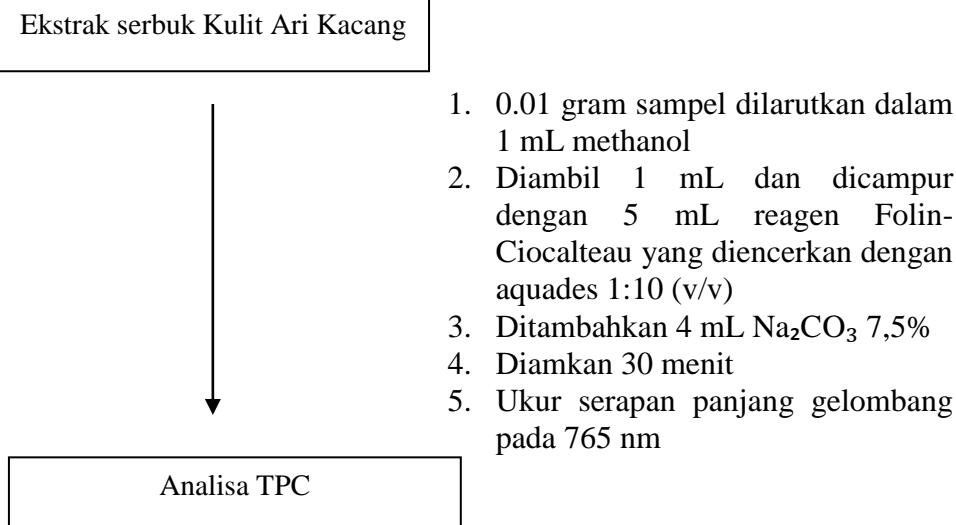
#### 5. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Larutan induk asam galat (0,06 mg/mL)

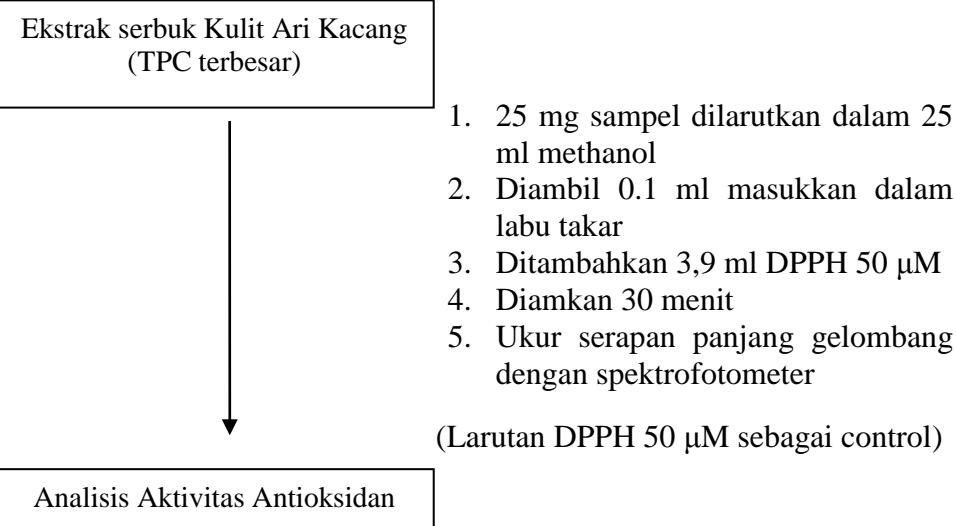
1. dari larutan induk, dibuat konsentrasi 0,01 ; 0,02 ; 0,03 ; 0,04 ; 0,05 mg/mL
2. Dari masing-masing konsentrasi diatas dipipet 1 mL, tambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteau yang diencerkan dengan aquades 1:10 (v/v)
3. Didiamkan selama 8 menit, tambahkan 4 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% , kocok homogen
4. Didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang
5. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum

Kurva Kalibrasi Asam Galat

## 6. Analisa Total Phenolic Content (TPC) dengan Metode Folin-Ciocalteau



## 7. Analisa Aktivitas Antioksidan



$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100 \%$$

## Lampiran 2

### Perhitungan

#### 1. Kadar Air

$$\text{Berat cawan kosong} = 34,7831 \text{ gram} \quad (\text{a})$$

$$\text{Berat cawan kosong + sampel} = 35,7824 \text{ gram} \quad (\text{b})$$

$$\text{Berat cawan + sampel setelah dioven} = 1). 35,6869 \text{ gram} \quad (\text{c})$$

$$2). 35,6888 \text{ gram} \quad (\text{c})$$

$$\begin{aligned} 1) \% \text{ Kadar Air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{35,7824 - 35,6869}{35,7824 - 34,7831} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= \frac{0,0955}{0,9993} \times 100\%$$

$$= 9,556 \%$$

$$\begin{aligned} 2) \% \text{ Kadar Air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{35,7824 - 35,6888}{35,7824 - 34,7831} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= \frac{0,0936}{0,9993} \times 100\%$$

$$= 9,366 \%$$

$$\text{Rata - Rata kadar air (1) \& kadar air (2)} = \frac{9,556 + 9,366}{2}$$

$$= 9,461 \%$$

## 2. Analisis Total Phenolic Content

Untuk hasil analisis Total Phenolic Content, persamaan linier kurva standar galat adalah  $y = 9,1657x + 0,0109$ , y menunjukkan absorbansi dan x menunjukkan konsentrasi asam galat.

Pelarut	Sampel (g)	Absorbansi
A <sub>1.1</sub>	0,01	0,133
A <sub>1.2</sub>	0,01	0,202
E <sub>1.1</sub>	0,01	0,284
E <sub>1.2</sub>	0,01	0,308
E <sub>2.1</sub>	0,01	0,347
E <sub>2.2</sub>	0,01	0,449

1) 5 gram sampel + 100 mL aquades

$$y = 9,1657x + 0,0109$$

$$0,133 = 9,1657x + 0,0109$$

$$x = 0,01332 \text{ mg/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{TPC} &= \frac{C \times V}{m} \\ &= \frac{0,01332 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ gram}} \end{aligned}$$

$$= 13,32 \text{ mg GAE/gram ekstrak}$$

2) 10 gram sampel + 100 mL aquades

$$y = 9,1657x + 0,0109$$

$$0,202 = 9,1657x + 0,0109$$

$$x = 0,02085 \text{ mg/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{TPC} &= \frac{C \times V}{m} \\ &= \frac{0,02085 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ gram}} \end{aligned}$$

$$= 20,85 \text{ mg GAE/gram ekstrak}$$

3) 5 gram sampel + 100 mL etanol 70%

$$y = 9,1657x + 0,0109$$

$$0,284 = 9,1657x + 0,0109$$

$$x = 0,0298 \text{ mg/mL}$$

$$\text{TPC} = \frac{C \times V}{m}$$

$$= \frac{0,0298 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ gram}}$$

$$= 29,80 \text{ mg GAE/gram ekstrak}$$

4) 10 gram sampel + 100 mL etanol 70%

$$y = 9,1657x + 0,0109$$

$$0,308 = 9,1657x + 0,0109$$

$$x = 0,03242 \text{ mg/mL}$$

$$\text{TPC} = \frac{C \times V}{m}$$

$$= \frac{0,03242 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ gram}}$$

$$= 32,42 \text{ mg GAE/gram ekstrak}$$

5) 5 gram sampel + 100 mL etanol 96%

$$y = 9,1657x + 0,0109$$

$$0,347 = 9,1657x + 0,0109$$

$$x = 0,03667 \text{ mg/mL}$$

$$\text{TPC} = \frac{C \times V}{m}$$

$$= \frac{0,03667 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ gram}}$$

$$= 36,67 \text{ mg GAE/gram ekstrak}$$

6) 10 gram sampel + 100 mL etanol 96%

$$y = 9,1657x + 0,0109$$

$$0,449 = 9,1657x + 0,0109$$

$$x = 0,0478 \text{ mg/mL}$$

$$\text{TPC} = \frac{C \times V}{m}$$

$$= \frac{0,0478 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ gram}}$$

$$= 47,80 \text{ mg GAE/gram ekstrak}$$

### 3. Analisis Aktivitas Antioksidan

Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi
Vitamin C	0,1	0,0677
	0,2	0,0259
	0,3	0,0257
BHA	0,1	0,5694
	0,2	0,5674
	0,3	0,5245
Ekstrak Kulit	0,1	0,5589
Ari Kacang	0,2	0,5200
Tanah	0,3	0,4905

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Absorbansi kontrol} = 0,6924$$

1) Vitamin C (0,1 mg/mL)

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,6924 - 0,0677}{0,6924} \times 100\%$$

$$= 90,222 \%$$

2) Vitamin C (0,2 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,0259}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 96,259 \%\end{aligned}$$

3) Vitamin C (0,3 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,0257}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 96,288 \%\end{aligned}$$

4) BHA (0,1 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,5694}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 17,764 \%\end{aligned}$$

5) BHA (0,2 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,5674}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 18,053 \%\end{aligned}$$

6) BHA (0,3 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,5245}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 24,249 \%\end{aligned}$$

7) Ekstrak kulit ari kacang tanah (0,1 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,5589}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 19,281 \%\end{aligned}$$

8) Ekstrak kulit ari kacang tanah (0,2 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,52}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 24,899 \%\end{aligned}$$

9) Ekstrak kulit ari kacang tanah (0,3 mg/mL)

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,6924 - 0,49055}{0,6924} \times 100 \% \\ &= 29,152 \%\end{aligned}$$

#### 4. Analisis IC<sub>50</sub>

Dari persamaan regresi linier yang didapatkan, digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam IC<sub>50</sub>.

1) Ekstrak Kulit Ari Kacang Tanah

Persamaan regresi linier yang didapatkan yaitu  $y = 49,355x + 14,573$

Digunakan untuk menentukan IC<sub>50</sub>

$$y = 49,355x + 14,573$$

$$50 = 49,355x + 14,573$$

$$x = 0,7178$$

$$IC_{50} = 0,7178 \text{ mg ekstrak/mL metanol}$$

2) BHA

Persamaan regresi linier yang didapatkan yaitu  $y = 32,425x + 13,537$

Digunakan untuk menentukan IC<sub>50</sub>

$$y = 32,425x + 13,537$$

$$50 = 32,425x + 13,537$$

$$x = 1,1245$$

$$IC_{50} = 1,1245 \text{ mg ekstrak/mL metanol}$$

### Lampiran 3.

#### Dokumentasi Penelitian

##### 3.1 Sampel Kulit Ari Kacang Tanah



(a) Kulit ari kacang tanah



(b) Serbuk kulit ari kacang tanah sebelum diayak



(c) Serbuk kulit ari kacang tanah 50 mesh

### 3.2 Bahan Penelitian



(a) Asam galat 0,06 mg/mL, reagen folin-ciocalteu,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%

### 3.3 Tahap Pembuatan Larutan Induk Asam Galat



(a) Larutan induk konsentrasi 0,01 ; 0,02 ; 0,03 ; 0,04 ; 0,05 mg/mL

### 3.4 Hasil Ekstraksi



(a) Sebelum dipekatkan



(b) Sesudah dipekatkan

### 3.5 Hasil Uji Fitokimia

#### 1. Uji Saponin



(a) Larutan sampel setelah digojog,



(b) tidak terbentuk busa ( - )  
ditambahkan HCl

#### 2. Uji Fenolat / Tannin



(a) Larutan sampel



(b) Setelah penambahan  
FeCl<sub>3</sub> 1%. Larutan  
berwarna hijau kehitaman  
( + )

### 3. Uji Flavonoid



(a) Larutan sampel



(b) setelah penambahan Mg dan HCl pekat. Larutan berwarna kuning. (+)

### 4. Uji Alkaloid



(a) Serbuk sampel + 20 ml kloroform.  
Disaring



(b) ditambahkan HCL 10%



(c) Tabung 1 : Larutan berwarna kuning ( - )  
Tabung 2 : Larutan bening, tidak terbentuk endapan ( - )

##### 5. Uji Steroid / Triterpenoid



(a) Larutan ekstrak + 5 ml kloroform



(b) ditambahkan aquades 5 ml



- (c) Lapisan kloroform ditambahkan arang aktif, anhidridra asam asetat dan asam sulfat pekat. Terbentuk cincin berwarna merah (+ terpenoid)

### 3.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan



(a) Larutan DPPH 50  $\mu\text{M}$