

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI LARUT *n*-
HEKSAN DARI DAUN *Melochia umbellata* (Houtt)
Stapf var. *deglabrata* DENGAN METODE DPPH**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF THE *n*-HEXANE
FRACTION FROM THE LEAVES OF *Melochia
umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* USING DPPH
METHOD**

**GRACE VIRGITA GALLA ADA'
N011191005**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI LARUT *n*-HEKSAN DARI DAUN
Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. *deglabrata*
DENGAN METODE DPPH**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF THE *n*-HEXANE FRACTION FROM
THE LEAVES OF *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata*
USING DPPH METHOD**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

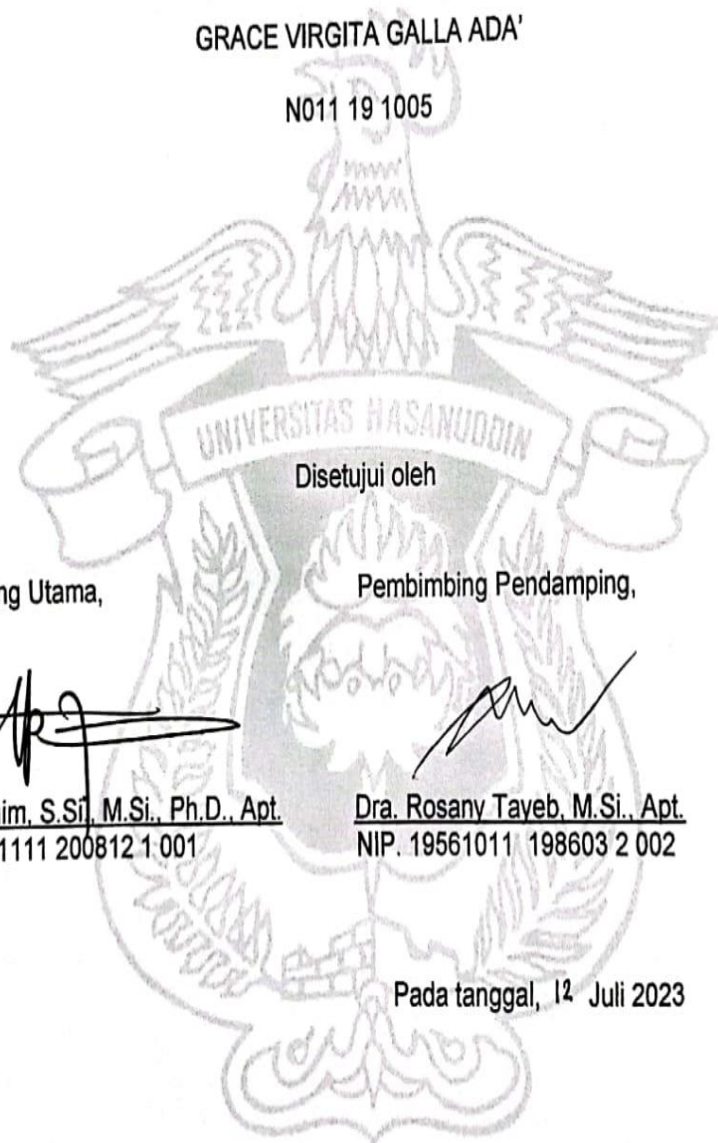
**GRACE VIRGITA GALLA ADA'
N011191005**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI LARUT *n*-HEKSAN DARI
DAUN *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata*
DENGAN METODE DPPH**

GRACE VIRGITA GALLA ADA'

N011 19 1005



Disetujui oleh

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19771111 200812 1 001

Dra. Rosany Taveb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002

Pada tanggal, 12 Juli 2023

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI LARUT *n*-HEKSAN DARI
DAUN *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata*
DENGAN METODE DPPH

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF THE *n*-HEXANE FRACTION FROM
THE LEAVES OF *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata*
USING DPPH METHOD

Disusun dan diajukan oleh :


GRACE VIRGITA GALLA ADA'
N011 19 1005


telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal ..II. Juli 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat


Menyetujui,

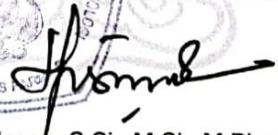
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19771111 200812 1 001


Dra. Rosany Taveb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002


Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc. Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Grace Virgita Galla Ada'

NIM : N011 19 1005

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Larut n-Heksan dari Daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* dengan Metode DPPH" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 12 Juli 2023

Yang Menyatakan



Grace Virgita Galla Ada'

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan dapat memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan semangat dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Abdul Rahim, S.Si, M.Si, Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dra. Rosany Tayeb M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan waktu, ilmu, arahan dan saran terhadap penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Muhammad Aswad S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Muhammad Nur Amir, S.Si, M.Si, Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing dan meluangkan waktunya untuk memberikan konsultasi akademik selama proses menyelesaikan studi di fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

4. Seluruh Bapak/ Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya dan membimbing penulis selama masa studi S1 juga seluruh staf akademik dan segala fasilitas dan pelayanan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi sehingga menyelesaikan penelitian ini.
5. Bapak Yakobus Ada' dan Ibu Adriana Galla selaku orang tua yang senantiasa mendoakan, memperhatikan, menguatkan dan mendukung penuh penulis selama menempuh studi hingga penyusunan skripsi ini.
6. Aurelia Anisa Galla' Ada' dan Giovanna Battista Meriam Galla Ada' selaku saudari kandung penulis yang senantiasa menyemangati dan mendengarkan segala kesulitan yang dihadapi penulis serta memberikan solusi khususnya dalam penyusunan skripsi ini.
7. Sahabat-sahabat penulis yaitu Elma Fatresia Palebangan, Eka Kurnia Pla'bistoni, Martrisna Dara Karnia Parenden, dan Renita Vitha Viona untuk setiap dukungan, doa, semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis selama menempuh masa studi.
8. Teman-teman penelitian yaitu Della Asmayani, Nurul Azizah Hamid, Fitrah Prana Mulya, dan Nurul Isnaini yang telah berjuang bersama dan saling mendukung selama bimbingan dan penelitian, khususnya kepada Indah Lestari selaku partner penelitian yang berjuang bersama mulai dari awal hingga akhir, suka-duka, jatuh-bangun, kecewa dan rasa syukur yang dirasakan bersama.

9. Rekan-rekan Korps. Asisten Farmakognosi-Fitokimia yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.
10. Teman-teman angkatan "DEXIGEN" atas kebersamaan yang diberikan selama penulis menjalani masa studi dari semester awal hingga akhir, melewati suka dan duka dalam perkuliahan, kepanitiaan angkatan dan masa-masa selama penyelesaian skripsi.
11. Teman-teman KKN Posko 3 Matajang yaitu Atifha Agussalim, Ayu Zochra, Armayani, Nur Qalbi, Marsela Anastasya, dan Nuzul Hirza yang selalu mendukung penulis dengan bentuk perhatian yang diberikan.
12. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam bidang Farmasi dan dapat menjadi acuan dalam mengembangkan penelitian-penelitian selanjutnya.

Makassar, 12 Juli 2023



Grace Virgita Galla Ada'

ABSTRAK

GRACE VIRGITA GALLA ADA'. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Larut *n*-Heksan dari Daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* dengan metode DPPH (dibimbing oleh Abdul Rahim dan Rosany Tayeb).

Antioksidan merupakan sistem pertahanan pertama dalam tubuh yang berperan melawan kerusakan akibat radikal bebas yang mampu memperlambat atau menghambat proses oksidasi. Tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* atau dikenal juga dengan nama daerah "paliasa" merupakan tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari fraksi larut *n*-Heksan daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* dengan metode DPPH. Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada fraksi larut *n*-Heksan dari daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* yang diuji menggunakan metode DPPH memiliki nilai aktivitas antioksidan yang sangat lemah dengan nilai persen inhibisi sebesar 50% pada konsentrasi 800 ppm. Golongan senyawa yang diduga memberikan aktivitas antioksidan pada fraksi larut *n*-Heksan adalah senyawa steroid dan terpenoid.

Kata Kunci: *M. umbellata*, Antioksidan, DPPH, Persen Inhibisi

ABSTRACT

GRACE VIRGITA GALLA ADA'. Antioxidant Activity Test Of The *n*-Hexane Fraction From The Leaves Of *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* Using DPPH Method (supervised by Abdul Rahim and Rosany Tayeb).

Antioxidants are the first defense system in the body that acts against damage caused by free radicals which can inhibit the oxidation process. *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* or also known as the local name "paliasa" is a plant that has the potential as an antioxidant. Therefore, it is necessary to test the antioxidant activity of the *n*-hexane fraction from the leaves of *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* with the DPPH method. Based on research conducted on the *n*-Hexane soluble fraction from the leaves of *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* tested using the DPPH method had a very weak antioxidant activity value with a percent inhibition value of 50% at a concentration of 800 ppm. The class of compounds suspected of providing antioxidant activity to the *n*-hexane soluble fraction are steroid and terpenoid compounds.

Keywords: *M. umbellata*, Antioxidant, DPPH, Percent Inhibition

DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	4
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Uraian Umum Tumbuhan Paliasa (<i>M. umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>deglabrata</i>)	5
II.1.1 Klasifikasi <i>M. umbellata</i> var. <i>deglabrata</i>	5
II.1.2 Morfologi Tumbuhan	6
II.1.3 Kandungan Kimia Tumbuhan	6
II.1.4 Manfaat Tumbuhan	6
II.2 Ekstraksi	7
II.2.1 Pengertian	7

II.2.2 Proses Pembuatan Ekstrak	7
II.2.3 Metode Ekstraksi	8
II.2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi	11
II.3 Partisi	12
II.4 Fraksinasi	13
II.5 Radikal Bebas	15
II.6 Antioksidan	16
II.7 Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)	18
II.8 Spektrofotometri UV-Vis	19
BAB III METODE PENELITIAN	23
III.1 Alat dan Bahan	23
III.2 Metode Kerja	23
III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel	23
III.2.2 Ekstraksi	24
III.2.3 Partisi Ekstrak	24
III.2.4 Fraksinasi Kromatografi Cair Vakum	25
III.2.5 Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan	25
III.2.6 Identifikasi Golongan Senyawa	26
III.2.7 Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
BAB V PENUTUP	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Kategori aktivitas antioksidan	19
2. Bobot fraksi larut <i>n</i> -Heksan dari hasil fraksinasi Kromatografi Cair Vakum	29
3. Hasil identifikasi golongan senyawa fraksi larut <i>n</i> -heksan <i>M. umbelatta</i> (Houtt) Stapf var. <i>deglabrata</i>	32
4. Hasil pengujian antioksidan metode DPPH	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>M. umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>deglabrata</i>	5
2. Reaksi penghambatan radikal DPPH	18
3. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan fraksi larut <i>n</i> -Heksan <i>M. umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>deglabrata</i>	29
4. Hasil uji identifikasi golongan senyawa fraksi larut <i>n</i> -Heksan <i>M. umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>deglabrata</i>	32
5. Grafik <i>n</i> -Heksan replikasi 1	41
6. Grafik <i>n</i> -Heksan replikasi 2	41
7. Grafik <i>n</i> -Heksan replikasi 3	42
8. Maserasi	43
9. Penguapan Pelarut	43
10. Partisi dengan metode Ekstraksi Cair Padat (ECP)	43
11. Fraksinasi dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV)	43
12. Hasil Fraksi KCV	43
13. Pengujian nilai persen inhibisi menggunakan spektrofotometer UV-Vis	43
14. Penyemprotan reagen uji	44
15. Larutan uji seri konsentrasi	44

DAFTAR SINGKATAN

μg	= microgram
Nm	= nanometer
mL	= mili Liter
Ppm	= <i>Parts per million</i>
UV	= Ultra Violet
Vis	= Visibel

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	39
2. Perhitungan	40
3. Dokumentasi Penelitian	43
4. Determinasi Tanaman	45

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan bersifat sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron dan menjadi stabil. Dalam jumlah tertentu, radikal bebas diperlukan untuk kesehatan seperti dalam tubuh manusia berfungsi untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah. Jika reaksi ini berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan tidak berhenti maka akan menimbulkan penyakit seperti kanker, jantung, penuaan dini dan menurunnya sistem imun tubuh (Irianti, 2021).

Antioksidan merupakan sistem pertahanan pertama dalam tubuh yang berperan melawan kerusakan akibat radikal bebas yang mampu memperlambat atau menghambat proses oksidasi. Sistem pertahanan antioksidan bekerja menekan atau mencegah pembentukan radikal bebas atau ROS dalam sel dengan menetralkan radikal bebas yang memiliki kemampuan memicu produksi radikal bebas lainnya (Sunarti, 2021). Antioksidan dapat diperoleh dari sumber eksternal yaitu dengan mengonsumsi makanan atau minuman. Zat aktif antioksidan dapat diekstraksi dari sumber alami lingkungan yang berasal dari bahan tumbuhan, bahan hewan, dan bahan mineral. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman

seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, dan biji (Yuslianti, 2018).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah paliasa yang termasuk dalam suku Malvaceae. Secara umum, paliasa dikenal pada tiga jenis tumbuhan yang berbeda yaitu *Kleinhovia hospita* Linn, *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* dan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *visenia* (Tayeb, dkk., 2007). Tumbuhan paliasa telah digunakan oleh masyarakat di daerah Sulawesi Selatan sebagai obat tradisional yang berkhasiat untuk mengobati penyakit liver, hipertensi, kolesterol dan hepatitis (Rafliizar dkk., 2006). Ekstrak metanol dari *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* diketahui mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan minyak atsiri (Usman, 2015). Berdasarkan penelitian Rahim *et al* (2020), *M. umbelatta* mengandung senyawa alkaloid kuinoline antara lain paliasanin A–E, waltherione A, waltherione F, 5'- methoxywaltherione A, dan antidesmone.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun *M. umbellata* memiliki aktivitas sebagai antikanker (Rahim, 2011), antivirus (Soekamto, 2018), dan antibakteri (Rante, 2017, Wullur 2015). Ekstrak metanol daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* bersifat paling toksik terhadap larva udang *Artemia salina* diantara ekstrak daun paliasa jenis lainnya (Tayeb, dkk, 2007, Erwin, 2009).

Dalam melakukan pengukuran aktivitas antioksidan dapat menggunakan berbagai macam metode salah satunya yaitu metode DPPH. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan dengan prinsip perubahan intensitas warna ungu DPPH menjadi kuning karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh senyawa antioksidan. Perubahan warna ini menyebabkan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis sehingga dapat diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan sebagai nilai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) (Flieger, 2020). Kelebihan dari pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah mudah dilakukan, cepat dan sensitif serta menggunakan sampel yang sedikit (Munteanu, 2021)

Meskipun penelitian aktivitas antioksidan dari daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* belum pernah dilaporkan, tetapi pengujian antioksidan dari daun paliasa jenis lain yaitu *Kleinhovia hospita* L. menunjukkan aktivitas yang poten (Arung, *et al*, 2009, Hasanuddin, 2017). Penelitian yang lain dari tumbuhan genus *Melochia* yaitu *M. corchorifolia* juga menunjukkan memiliki aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif yang poten (Rao,*et al*, 2013). Berdasarkan uraian tersebut, telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari fraksi larut *n*-Heksan daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* dengan metode DPPH.

I.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana aktivitas antioksidan fraksi larut *n*-Heksan dari daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* menggunakan metode DPPH?
2. Apa golongan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan dari fraksi larut *n*-Heksan daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata*?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui aktivitas antioksidan fraksi larut *n*-Heksan dari daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* menggunakan metode DPPH.
2. Mengetahui jenis golongan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan dari fraksi larut *n*-Heksan daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Umum Tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata*

II.1.1 Klasifikasi *M. umbellata* var. *deglabrata* (Ganesan et al, 2018)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvaceae
Marga	: Melochia
Jenis	: <i>Melochia umbellata</i> (Houtt.) Stapf var. <i>deglabrata</i>



Gambar 1. *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* (Koleksi pribadi)

II.1.2 Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *deglabrata* memiliki tinggi pohon hingga 8 m, kulit batang berwarna coklat, umumnya halus tapi lentisel yang mencolok. Daun memiliki bentuk *cordate* yaitu menyerupai jantung, susunan daun *alternate* (berseling), tangkai daun ramping dengan panjang 8–

10,5 cm (hingga 17,5 cm pada anakan), permukaan daun *tomentose* (berambut), tepi daun bergerigi dan ujung daun meruncing. Bunga biseksual, simetris radial, berbentuk lonceng dengan memiliki 5 kelopak dan mahkota bunga. Kelopak berbentuk bulat telur sampai lonjong, panjang 5–6,5 mm. Pada bagian buah berbentuk kapsul dengan permukaan berambut, berwarna hijau pucat, coklat matang dan memiliki biji berukuran 4,5–5,5 mm berwarna coklat muda (Ganesan *et al*, 2018)

II.1.3 Kandungan Kimia Tumbuhan

M. umbelatta (Houtt) Stapf var. *deglabrata* memiliki kandungan kimia seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan minyak atsiri (Usman, 2015). Selain itu, juga mengandung senyawa antrakinin, bufadienol, cardenolin, keampferol, saponin, scopoletin, sianogenik, dan triterpenoid sikloartan (Usman, 2020). Berdasarkan penelitian Rahim *et al* (2020), *M. umbelatta* mengandung senyawa alkaloid kuinoline antara lain paliasanin A–E, waltherione A, waltherione F, 5'- methoxywaltherione A, dan antidesmone.

II.1.4 Manfaat Tumbuhan

Tumbuhan *M. umbellata* telah digunakan oleh masyarakat di daerah Sulawesi Selatan sebagai obat tradisional yang berkhasiat untuk mengobati penyakit liver, hipertensi, kolesterol dan hepatitis (Raflizar dkk., 2006). Menurut Rahim (2011), secara empiris tumbuhan ini digunakan untuk mengobati penyakit kanker khususnya kanker rahim dan hati.

II.2 Ekstraksi

II.2.1 Pengertian

Ekstraksi adalah proses pemisahan dengan berdasar pada perpindahan massa komponen kimia dari sampel bahan alam seperti tumbuhan ke dalam suatu pelarut organik. Proses berlangsungnya yaitu pelarut organik menembus dinding sel tumbuhan lalu masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dan berdifusi masuk ke dalam pelarut organik. Proses ini akan terus berlangsung hingga terjadi kesetimbangan konsentrasi zat aktif antara yang berada di dalam dan di luar sel. Hasil dari proses ekstraksi disebut ekstrak (Munaeni, dkk, 2022). Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI, ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

II.2.2 Proses Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak diawali dengan tahap pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Simplisia dibuat menjadi serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak. Semakin halus serbuk simplisia maka proses ekstraksi semakin efektif dan efisien, namun makin halus serbuk, maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi. Dalam proses pembuatan ekstrak, perlu digunakan pelarut yang baik dan optimal untuk memisahkan senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif dari bahan

sehingga ekstrak yang diperoleh mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Faktor utama dalam pemilihan cairan penyari adalah selektivitas, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan. Setelah itu, dilakukan proses pemekatan atau penguapan ekstrak. Proses ini bertujuan untuk menguapkan pelarut untuk meningkatkan jumlah zat terlarut hingga ekstrak menjadi kental atau pekat. Adapun perhitungan persen rendemen yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000).

II.2.3 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi diperlukan untuk memisahkan campuran bioaktif dari sumber tumbuhan. Dalam menentukan metode ekstraksi yang akan digunakan, hal yang perlu diperhatikan adalah sifat komponen kimia dari sampel yaitu *thermolabile* (tidak tahan terhadap panas) dan *thermostabile* (tahan terhadap panas). Jika sifat komponen kimia tahan terhadap panas, maka dapat digunakan metode yang melibatkan pemanasan dan demikian pula sebaliknya. Adapun metode-metode ekstraksi sebagai berikut :

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut

setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000). Penyarian zat dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama beberapa hari. Pengulangan proses perendaman bertujuan untuk mendapatkan sebanyak mungkin senyawa yang terekstraksi (Nugroho, 2020). Kelebihan dari metode ini adalah efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas dan peralatan yang digunakan sederhana. Namun memiliki kekurangan yaitu memerlukan waktu yang lama dan jumlah pelarut yang banyak (Wewengkang, 2021).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1- 5 kali bahan (Depkes RI, 2000). Pada metode ini, bahan direndam dengan pelarut, kemudian pelarut baru dialirkan secara terus menerus sampai pelarut tidak lagi berwarna atau tetap bening yang menandakan sudah tidak ada senyawa yang terlarut. Kelebihan dari metode ini adalah tidak diperlukan proses pemisahan padatan dengan ekstrak, sedangkan kekurangan yaitu membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak dan prosesnya

membutuhkan waktu yang cukup lama serta tidak meratanya kontak antara padatan dan pelarut (Wewengkang, 2021).

2. Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000). Kelebihan dari metode ini adalah dapat digunakan untuk sampel padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan, sedangkan kekurangannya yaitu membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak (Wewengkang, 2021).

b. Soxhletasi

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus yaitu esktraktor soxhlet sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000). Pada metode ini, sampel disimpan dalam alat soxhlet dan hanya pelarutnya yang dipanaskan. Pelarut terdinginkan dalam kondensor kemudian mengesktraksi sampel. Kelebihan dari metode ini adalah proses esktraksi berlangsung secara kontinu, memerlukan waktu ekstraksi yang tidak terlalu lama dan jumlah pelarut yang lebih sedikit

dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Kekurangan dari metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya zat aktif yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Wewengkang, 2021).

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 - 50°C (Depkes RI, 2000).

d. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15 - 20 menit) (Depkes RI, 2000).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (30°C) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

II.2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi, yaitu (Wewengkang, 2021):

1. Jenis pelarut

Jenis pelarut mempengaruhi senyawa yang tersari, jumlah zat terlarut yang tereskrak dan kecepatan ekstraksi

2. Suhu

Secara umum, kenaikan suhu akan meningkatkan jumlah zat terlarut ke dalam pelarut

3. Rasio pelarut dan bahan baku

Jika rasio pelarut dan bahan baku besar maka akan memperbesar jumlah senyawa yang terlarut sehingga laju ekstraksi akan semakin meningkat.

4. Ukuran partikel

Ukuran partikel bahan baku yang semakin kecil akan meningkatkan laju ekstraksi. Rendemen ekstrak akan semakin besar bila ukuran partikel semakin kecil.

5. Pengadukan

Pengadukan bertujuan untuk mempercepat terjadinya reaksi antara pelarut dan zat terlarut

6. Lama waktu

Lamanya waktu ekstraksi akan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak karena kontak antara zat terlarut dengan pelarut lebih lama.

II.3 Partisi

Partisi merupakan proses pemisahan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya menggunakan pelarut yang sesuai. Prinsip dari partisi adalah *like dissolve like* yaitu senyawa akan larut pada pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama. Senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar (Xu, 2011).

Partisi dibedakan menjadi partisi cair-padat dan partisi cair-cair.

1. Partisi Cair-Padat

Pada metode partisi cair padat, pemisahan komponen kimia dalam bentuk padatan dilakukan dengan menggunakan pelarut yang sesuai berdasarkan kelarutan dari komponen kimia (Najib, 2018).

2. Partisi Cair-Cair

Pada metode partisi cair-cair, pemisahan komponen kimia menggunakan dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Sampel dimasukkan dalam corong pisah kemudian ditambahkan dua pelarut yang tidak saling bercampur. Corong pisah kemudian digojog kuat untuk menimbulkan kontak yang maksimum antara dua permukaan cairan sehingga memungkinkan komponen mengalami partisi antara dua fase. Fase dengan massa jenis yang tinggi akan berada di bawah, sedangkan fase dengan massa jenis yang lebih rendah akan berada di lapisan atas (Rohman, 2018).

II.4 Faksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan ekstrak menjadi fraksi-fraksi yang mengandung senyawa dengan polaritas atau ukuran molekul yang sama (sarker, 2005). Fraksinasi dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu:

1. Kromatografi Kolom

Pemisahan senyawa dengan kromatografi kolom didasarkan pada adsorpsi senyawa dalam fase diam berdasarkan kepolaran senyawa. Senyawa yang lebih non polar akan turun terlebih dahulu dibandingkan

dengan senyawa yang lebih polar. Fase diam yang digunakan adalah adsorben bubuk seperti silika gel yang ditempatkan pada kolom kaca vertikal kemudian sampel diletakkan pada bagian atas kolom. Pengisian adsorben kedalam kolom harus seragam tanpa sekat agar menyebabkan aliran pelarut yang teratur. Setelah sampel dimasukkan kedalam kolom, fase gerak berupa pelarut dialiri melalui kolom tersebut. Hasil yang diperoleh berupa fraksi-fraksi senyawa (eluat) ditampung dalam wadah. Laju elusi dipengaruhi oleh gaya gravitasi (Saidi, 2018).

2. Kromatografi Cair Vakum

Prinsip kromatografi cair vakum sama dengan kromatografi kolom. Perbedaannya terdapat pada ukuran silika gel yaitu silika gel 60 F₂₅₄ yang memiliki partikel lebih kecil dan pergerakan sampel dan eluen didasarkan pada bantuan pompa vakum untuk mempercepat laju elusi. Sampel dikemas dalam keadaan kering dengan cara mencampurkan dengan silika gel yang ukuran partikelnya sedikit lebih kasar. Sistem elusi dilakukan secara gradien elusi dengan kepolaran pelarut yang semakin meningkat (Saidi, 2018). Kelebihan dari metode kromatografi cair vakum adalah waktu pemisahan yang lebih cepat, resolusi yang baik dan kapasitas pemisahan yang besar (Xu, 2011).

II.5 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga menyebabkan molekul bersifat sangat reaktif. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil

disekitarnya dan mengambil elektron. Zat yang kehilangan elektronnya akan menjadi radikal bebas baru sehingga akan terjadi reaksi berantai yang menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas dapat terbentuk dari reaksi oksidasi berlebihan dalam sel tubuh manusia yang terjadi ketika bernafas dan proses metabolisme dalam tubuh. Dalam jumlah normal, radikal bebas dalam tubuh bermanfaat bagi Kesehatan seperti melawan peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh sementara dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan kerusakan oksidatif hingga ke organ tubuh yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya berbagai penyakit (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dapat bersumber dari dalam tubuh (endogen) dan berasal dari luar tubuh (eksogen). Radikal bebas endogen terbentuk sebagai respon normal dari reaksi respirasi dalam tubuh. Sumber terbentuknya radikal bebas dalam tubuh adalah enzim-enzim superoksida dismutase (SOD), sitokrom P-450, santin oksidase, lipoksigenase, siklo-oksigenase, enzim-enzim pentranspor elektron, dan kuinon. Mekanisme timbulnya radikal bebas endogen adalah oto-oksidasi, aktivitas oksidasi, dan sistem transport elektron. Radikal bebas eksogen bersumber dari polutan, makanan dan minuman, radiasi, ozon, dan residu pestisida (Junaidi, 2021).

Radikal bebas yang bersumber dari proses oksidasi dalam tubuh disebut *Reactive Oxidative Species* (ROS). ROS merupakan jenis molekul radikal yang berasal dari molekul oksigen yang digunakan dalam pernapasan

dan metabolisme tubuh. ROS dikelompokkan dalam dua golongan yaitu (Junaidi, 2021):

- a. *Oxygene-centered radicals*, contohnya anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (-OH), radikal alkoksil (RO \cdot), dan radikal peroksil (ROO \cdot)
- b. *Oxygene-centered non-radicals*, contohnya hidrogen peroksida (H_2O_2) dan single oksigen (1O_2)

II.6 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Winarsari, 2007).

Sistem antioksidan dalam tubuh secara garis besar terbagi menjadi dua kelompok utama, yaitu antioksidan endogen (enzimatik) dan antioksidan eksogen (nonenzimatik). Antioksidan enzimatik terdiri atas enzim superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), glutathion reduktase (GR), glukosa 6-fosfat, dan asam urat. Antioksidan eksogen (nonenzimatik) dapat diperoleh dari sumber eksternal dengan mengonsumsi makanan atau minuman. Antioksidan nonenzimatik terdiri atas kofaktor, asam fenolik, Vitamin (A, C, E, K), karoten dan flavonoid (Sunarti, 2021).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dikelompokkan menjadi (Sunarti, 2021):

a. Antioksidan primer

Sistem pertahanan antioksidan ini berperan penting untuk menetralkan radikal yang dihasilkan dalam metabolisme normal dalam tubuh terutama melalui jalur produksi energi di mitokondria. Bekerja dengan mencegah pembentukan radikal bebas atau ROS dalam sel dengan bertindak cepat dalam menetralkan molekul yang berpotensi berkembang menjadi radikal bebas. Antioksidan pertama terdiri atas tiga enzim yaitu SOD, GPx, dan CAT.

b. Antioksidan sekunder

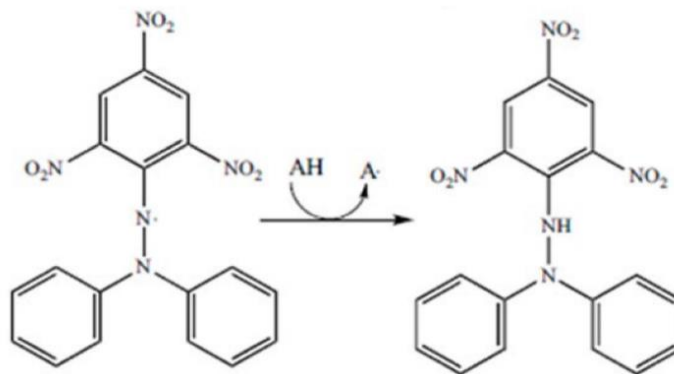
Sering disebut sebagai antioksidan *scavenging* yang menangkap radikal bebas dan mengubahnya menjadi radikal baru yang mudah dinetralkan dan menjadi senyawa senyawa tidak berbahaya oleh antioksidan lainnya. Antioksidan kedua terdiri atas asam askorbat, asam urat, glutathione, α - tokoferol (vitamin E) dan ubiquinol.

c. Antioksidan tersier

Sistem ini berperan setelah terjadi kerusakan. Antioksidan terdiri atas enzim-enzim yang akan memperbaiki biomolekul dan merekonstruksi membran sel yang rusak termasuk memperbaiki DNA. Antioksidan ini berupa enzim polimerase, glikosilase, nuklease, proteinase, protease, dan peptidase.

II.7 Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Metode DPPH merupakan metode analisis antioksidan yang menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsip dari metode ini adalah penangkapan atom hidrogen oleh radikal DPPH dari zat antioksidan dengan reaksi sebagai berikut.



Gambar 2. Reaksi penghambatan radikal DPPH (Munteanu, 2021)

Radikal DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan tereduksi menjadi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazine (DPPH-H) yang terjadi karena adanya donor hidrogen dari zat antioksidan menyebabkan perubahan intensitas warna ungu DPPH menjadi. Perubahan warna ini menyebabkan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis sehingga dapat diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan sebagai nilai *Inhibitory Concentration* (IC_{50}) (Flieger, 2020). Parameter IC_{50} pada metode DPPH menunjukkan konsentrasi uji yang mampu menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Nilai berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan suatu senyawa dalam sampel uji. Semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa uji, maka semakin rendah nilai IC_{50} yang diperoleh (Molyneux, 2004). Kelebihan dari pengujian aktivitas

antioksidan menggunakan metode DPPH adalah mudah dilakukan, cepat dan sensitif serta menggunakan sampel yang sedikit (Munteanu, 2021).

Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan dapat dikategorikan sebagai berikut.

Tabel 1. Kategori aktivitas antioksidan (Indarti, 2019)

Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
101-250	Sedang
250-500	Lemah

II.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel secara kuantitatif dan kualitatif berdasarkan interaksi antara materi dan cahaya. Spektrofotometri UV-Vis memiliki prinsip hukum Lambert-Beer yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan (Sembiring, 2019).

Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang berfungsi untuk mengukur absorbansi di daerah UV-Vis. Instrumen ini terdiri atas sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Terdapat dua penataan pada spektrofotometer UV-Vis yaitu spektrofotometer berkas tunggal (*single beam*) dan spektrofotometer berkas ganda (*double beam*). Spektrofotometer berkas tunggal digunakan hampir di semua sistem spektroskopi emisi, sedangkan spektrofotometer berkas ganda digunakan pada hampir semua sistem absorpsi (Rohman, 2023).

Sampel ditempatkan dalam salah satu berkas sinar, dan berkas sinar yang lain digunakan sebagai tempat blangko berupa pelarut. Berkas sinar kemudian dilewatkan ke dalam monokromator yang terdiri atas bagian yang berputar secara cepat yang melewatkan dua berkas sinar secara bergantian ke prisma atau kisi difraksi, sedangkan kisi difraksi yang bergerak secara lambat akan melakukan variasi panjang gelombang radiasi yang sampai ke detektor. Detektor kemudian akan merekam perbedaan antara berkas sinar dari sampel dan dari blangko dalam suatu pencatat (rekorder). Kelebihan spektrofotometer berkas ganda adalah absorbansi yang diperoleh sudah berupa spektrum net yaitu spektrum yang diperoleh telah dikurangkan dengan spektrum blangko (Rohman, 2023).

Adapun bagian-bagian penting pada spektrofotometer UV-Vis, yaitu (Rohman, 2023):

1. Sumber sinar

Sumber sinar terdiri atas dua lampu yang terpisah tetapi secara bersamaan mampu menjangkau keseluruhan daerah spektrum ultraviolet dan tampak. Pada sinar tampak digunakan lampu tungsten yang terbuat dari logam tungsten dan mampu mengemisikan sinar pada panjang gelombang 350-2000 nm. Pada senyawa-senyawa yang menyerap di spektrum daerah ultraviolet digunakan lampu deuterium yang mengemisikan sinar pada panjang gelombang 200-370 nm dan digunakan untuk semua spektroskopi dalam daerah spektrum ultraviolet.

2. Monokromator

Pada pengukuran kuantitatif, sinar harus bersifat monokromatik yaitu sinar dengan satu panjang gelombang tertentu. Hal ini dicapai dengan melewatkan sinar polikromatik melalui suatu monokromator. Monokromator terdiri atas elemen pendispersi yang berfungsi untuk mendispersikan radiasi yang jatuh kepadanya sesuai dengan panjang gelombang, celah masuk yang memungkinkan cahaya dari sumber sinar jatuh ke elemen pendispersi, dan celah keluar yang berfungsi mengizinkan cahaya dengan pita yang sangat sempit yang dapat melalui sampel dan detektor.

3. Kuvet

Kuvet berfungsi sebagai wadah sampel yang harus memiliki bagian yang transparan di daerah yang dituju. Kuvet yang baik adalah yang tegak lurus dengan arah berkas sinar yang umumnya memiliki ketebalan 1 cm. Kuvet harus dicuci sebelum dan setelah penggunaan karena adanya sisa-sisa sampel yang menempel di dinding kuvet dapat mengubah karakteristik transmisi kuvet.

4. Detektor

Detektor berfungsi untuk mengukur intensitas radiasi yang mengenainya. Detektor melaksanakan tugasnya dengan mengubah energi radiasi ke dalam energi listrik. Setelah sinar melalui sampel maka penurunan intensitas apa pun yang disebabkan oleh penyerapan sinar oleh analit diukur dengan detektor. Setelah sinyal elektrik meninggalkan tabung

pengganda foton maka sinyal elektrik tersebut akan menuju perekam untuk menampilkan spektrum serapannya.