

**UJI EFEK ANTIOKSIDAN EKSTRAK
KLIKA ONGKEA (*Mezzettia parviflora* Becc.) DENGAN
METODE PEMUDARAN β -KAROTEN**

**NOVAL RIYANTO SAMAD
N111 05 230**



SKR-f10
SAM
U

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

**UJI EFEK ANTIOKSIDAN EKSTRAK
KLIKA ONGKEA (*Mezzettia parviflora* Becc.) DENGAN METODE
PEMUDARAN β -KAROTEN**

Skripsi

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

**NOVAL RIYANTO SAMAD
N111 05 230**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2010**

UJI EFEK ANTIOKSIDAN EKSTRAK
KLIKA ONGKEA (*Mezzettia parviflora* Becc.) DENGAN METODE
PEMUDARAN β -KAROTEN

NOVAL RIYANTO SAMAD

N111 05 230

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Mufidah, S.Si., M.Si., Apt
NIP. 19730309 199903 2 002

Pembimbing Pertama



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt
NIP. 19641231 199002 1 005

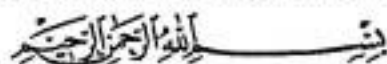
Pembimbing Kedua



Hamsidar Hasan, S.Si., Apt
NIP. 19700525 200501 2 001

Pada tanggal, 24 Mei 2010

UCAPAN TERIMA KASIH



Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayahNya yang telah memberikan kesempatan dan kesehatan, sehingga penelitian dengan judul "Uji Efek Antioksidan Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dengan Menggunakan Metode Pemudaran β -karoten" telah rampung sebagai skripsi sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Dalam rangka penyusunan skripsi ini banyak kendala yang dihadapi penulis, namun berkat bantuan serta dukungan yang telah diberikan oleh berbagai pihak akhirnya kendala-kendala tersebut dapat dilewati dengan baik. Oleh karena itu, atas berbagai bantuan serta dukungan tersebut, penulis menghaturkan banyak terima kasih.

Terima kasih penulis ucapkan pada:

1. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin,
2. Ibu Mufidah, S.Si., M.Si., Apt, sebagai pembimbing utama yang ditengah kesibukannya telah membimbing, memberikan arahan, saran dan pendapat serta kritikan yang menjadi pemicu semangat, Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. sebagai pembimbing pertama dan Ibu Hamsidar Hasan, S.Si, Apt. Sebagai pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, memberikan petunjuk, pemikiran, bimbingan dan saran kepada penulis,

3. Bapak Drs. Hi. Ali Kaku, M.Pd, selaku ketua program Kerjasama Farmasi UNG-UNHAS dan penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk selama mengikuti pendidikan strata satu,
4. Bapak ibu dosen serta seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, atas curahan ilmu pengetahuan dan segala bantuan yang diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan, penelitian, hingga selesainya skripsi ini,
5. Bapak ibu dosen serta seluruh staf Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo, atas limpahan ilmu serta bantuan yang telah diberikan,
6. Kak Lukman dan kak Rusdi, atas bimbingan, masukan, waktu, serta bantuan dan semangatnya,
7. Kepada teman-teman mahasiswa Farmasi khususnya angkatan 2005 dan 2006, yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang senantiasa memberiku semangat dan dukungan,
8. Sahabatku Zulkifly Burudji dan Teman-teman seperjuangan Dwi Agustin R. Mohamad, Yentriani Koniyo, Endang Sumanti, Dewi Yusnita Bakung, Siska Ismail, Febrianti Polontalo, Nurziah Suweleh, Ibu Indah Singgih, Ibu Rathiana Abd. Samad, dan Fadhila Halida atas bantuan tenaga dan pikirannya serta dorongan semangat kepada penulis untuk membantu penyusunan skripsi ini, kalian selalu ada disaat suka maupun duka dan membuatku memahami makna kehidupan dan persahabatan.

Terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada Ayahanda Hi. Abd. Rahman Samad dan Ibunda Hj. Rosni Mohamad S.Pd serta adikku Rifky Hermawan Samad yang tidak pernah merasa lelah memberikan dukungan moril dan bantuan material, serta doa yang tulus selama menempuh pendidikan di bangku kuliah hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca. Semoga Allah SWT selalu memberikan berkah dan hidayah-NYA kepada kita sekalian. Amin...

Makassar, 2010

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang efek antioksidan ekstrak tidak larut aseton klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dengan metode pemudaran β -karoten. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek antioksidan ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dengan metode pemudaran β -karoten. Metode ini didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah peluruhan atau pemudaran warna jingga karoten akibat radikal bebas yang dimediasi oleh oksidasi asam linoleat. Ekstrak tidak larut aseton dari klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) memiliki nilai IC_{50} sebesar 56,23 ppm, lebih lemah dibanding vitamin E yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,75 ppm.

ABSTRACT

The research concerning antioxidant effect of insoluble acetone extract of Ongkea Woodbark (*Mezzettia parviflora* Becc.) based on β -carotene bleaching had been done. The aim of this research was to determine antioxidant effect the extract by β -carotene bleaching method. This method based on antioxidant capability in preventing carotene discoloration caused by free radical mediated oxidation of linoleic acid. The IC_{50} of insoluble acetone extract of Ongkea Woodbark (*Mezzettia parviflora* Becc.) was 56.23 ppm, lower than Vitamin E activity which have IC_{50} 2.75 ppm.

DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1 Uraian Tanaman	3
II.1.1 Klasifikasi Tanaman	3
II.1.2 Nama Daerah	3
II.1.3 Morfologi Tanaman	3
II.1.4 Kandungan Kimia	4
II.1.5 Kegunaan Tanaman	4
II.2 Uraian Umum	4
II.2.1 Radikal Bebas Oksidasi Lipid dan Antioksidan	4
II.2.1.1 Radikal Bebas	4
II.2.1.2 Pembentukan radikal bebas	7
II.2.1.3 Oksidasi Lipid	8
II.2.1.4 Antioksidan	9
II.2.1.5 Klasifikasi Antioksidan	11

II.2.1.6 Mekanisme Kerja Antioksidan	14
II.2.2 β -Karoten	15
II.2.3 Vitamin E	19
II.3 Uji Efek Antioksidan.....	21
II.4 Metode Ekstraksi Bahan Alam	23
II.4.1 Definisi Ekstrak	23
II.4.2 Ekstraksi	23
II.4.3 Jenis-Jenis Ekstraksi	24
II.5 Spektrofotometer UV-VIS	24
II.5.1 Pengertian Spektrofotometer.....	24
II.5.2 Spektrofotometer UV-VIS	25
II.5.3 Prinsip.....	25
II.5.4 Absorpsi Oleh Senyawa.....	27
II.5.5 Perangkat Spektrofotometer	27
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	29
III.1 Alat dan Bahan	29
III.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel.....	29
III.2.1 Pengambilan Sampel.....	29
III.2.2 Penyiapan Sampel	29
III.3 Ekstraksi dan Partisi	29
III.4 Prosedur Uji Efek Antioksidan	30
III.4.1 Pembuatan Larutan stok sampel	30
III.4.2 Pembuatan Larutan stok α -tochopherol.....	30

III.4.3 Pelaksanaan Pengujian Efek Antioksidan	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
IV.1 Hasil Penelitian	32
IV.2 Pembahasan	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pengukuran serapan ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.) dengan metode pemudaran β -karoten	40
2. Hasil pengukuran serapan Vitamin E dengan metode pemudaran β -karoten	41
3. Harga probit sesuai persentasenya	42
4. Persentase Penghambatan Pemudaran β -karoten oleh ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.)	43
5. Persentase Penghambatan Pemudaran β -karoten oleh Vitamin E	44
6. Hasil Perhitungan IC_{50} Setelah Inkubasi Selama 120 Menit	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Ekstraksi dan Partisi.....	48
2. Skema Kerja Efek Antioksidan Ekstrak Tidak Larut Aseton Klika Ogkea dengan Menggunakan Metode Pemudaran β -karoten.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Peroksidasi Lipid	9
2. Struktur dari β -karoten.....	17
3. Struktur vitamin E	20
4. Diagram sederhana Spektrofotometer	29
5. Grafik hubungan antara waktu dengan Persentase penghambatan pемudaran β -karoten Ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.)	35
6. Grafik hubungan antara waktu dengan Persentase penghambatan pемudaran β -karoten Vitamin E.....	36
7. Grafik hubungan antara log konsentrasi Ekstrak tidak larut Aseton klika Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.) dengan nilai probit.....	46
8. Grafik hubungan antara log konsentrasi dengan vitamin E	47
9. Grafik hubungan antara waktu dengan Persentase pемudaran β -karoten Ekstrak Tidak larut aseton klika Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.)	50
10. Grafik hubungan antara waktu dengan Persentase penghambatan pемudaran β -karoten Vitamin E.....	50
11. Profil KLT Ekstrak Klika Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.) ...	51
12. Tanaman Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.)	52
13. Klika Ongkea (<i>Mezzetia parviflora</i> Becc.) yang Telah Dikeringkan	52

BAB I PENDAHULUAN

Antioksidan adalah zat yang menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi akibat radikal bebas dalam oksidasi lipid. Selain itu antioksidan juga merupakan senyawa yang mempunyai struktur yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali (1), dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak (2).

Reaksi oksidasi terjadi setiap saat, ketika kita bernapas pun terjadi reaksi oksidasi. Reaksi ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur dan fungsi sel (1). Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital bagian luar (1,2). Radikal bebas juga terdapat di lingkungan sekitar kita yang berasal dari polusi udara, asap rokok, asap pabrik (3), sinar Ultra Violet, sinar X dan ozon (2).

Radikal bebas dapat merusak sel tubuh apabila tubuh kekurangan zat antioksidan. Hal ini dapat menyebabkan berkembangnya sel kanker, penyakit hati, arthritis, katarak, dan penyakit degeneratif lainnya, bahkan juga mempercepat proses penuaan (1,4).

Antioksidan sangat beragam jenisnya, berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) (1).

Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) adalah salah satu tanaman familia annonacea, oleh masyarakat Sulawesi Tenggara secara empiris digunakan untuk mengobati berbagai penyakit degeneratif, antara lain antidiabetes dan antiinfeksi (5,6).

Hasil penelitian sebelumnya didapatkan bahwa ekstrak klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) memiliki aktivitas antiradikal bebas terhadap DPPH dan nitrit oksida yang merupakan radikal hidrofilik (7,8). Namun penelitian mengenai efek ekstrak klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) terhadap radikal yang lipofilik belum dilaporkan. Salah satu metode uji antiradikal bebas yang dapat digunakan adalah pemudaran β -karoten. Metode ini didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah atau menghambat pemudaran warna jingga karoten akibat oksidasi oleh radikal peroksida yang terbentuk pada reaksi oksidasi asam linoleat. Radikal peroksida akan menyerang ikatan rangkap terkonjugasi yang banyak pada senyawa β -karoten. Karena senyawa β -karoten banyak kehilangan ikatan rangkap, maka senyawa β -karoten akan mengalami pemudaran warna yang ditandai dengan menurunnya nilai absorbansi seiring dengan semakin lamanya pemanasan (9).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui adanya efek antioksidan ekstrak klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) dengan menggunakan metode pemudaran β -karoten.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman *Mezzettia parviflora* Becc.

II.1.1 Klasifikasi

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Angiospermae
Subclass	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Mezzettia</i>
Spesies	: <i>Mezzettia parviflora</i> Becc (6).

II.1.2 Nama Daerah

Buton	: Ongkea
Palembang	: Makai
Bangka	: Limang (10).

II.1.3 Morfologi

Mezzettia sp. merupakan pohon, tinggi sampai 30 meter dan diameter batang 90 cm, di Sumatera Selatan Sering ditemukan di daerah pantai. Batangnya tumbuh tegak lurus, bulat, menghasilkan kayu yang agak berat tetapi mudah dikerjakan, warna kayu putih kotor, dari kayu tersebut dapat dibuat papan yang digunakan di dalam ruangan. Kulitnya

mudah dikupas, tebal, digunakan sebagai dinding rumah. Buahnya dapat menyebabkan pusing dan muntah (10).

II.1.4 Kandungan Kimia

Telah dilaporkan bahwa sekitar 75 spesies yang termasuk 50 genus Annonaceae ternyata mengandung alkaloid. Hampir semua alkaloid yang terdapat pada Annonaceae adalah dari kelompok isokuinolin. Annonaceae juga menghasilkan berbagai senyawa non-alkaloid, seperti terpenoid dan flavonoid, disamping minyak atsiri, asam amino, protein, karbohidrat, dan lemak (5).

II.1.5 Kegunaan Tanaman

Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) telah digunakan secara turun temurun oleh masyarakat Kabupaten Buton sebagai obat diabetes, asma, kolesterol, tekanan darah tinggi, kanker, dan dapat menurunkan bobot badan.

II.2 Uraian Umum

II.2.1 Radikal Bebas, Oksidasi Lipid dan Antioksidan

II.2.1.1 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital bagian luar. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion), atau tidak bermuatan. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan,

dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya dan akan menghasilkan radikal bebas baru yang makin banyak. Reaksi ini dapat dianggap sebagai reaksi berantai (*chain reaction*) (4).

Secara biokimia, proses pelepasan elektron dari suatu senyawa disebut oksidasi, sementara proses penangkapan elektron disebut reduksi. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor (1).

Reaktivitas radikal bebas merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron. Sebagai dampak kerja radikal bebas tersebut, akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya. Namun, bila dua senyawa radikal bertemu, elektron-elektron yang tidak berpasangan dari kedua senyawa tersebut akan bergabung dan membentuk ikatan kovalen yang stabil. Sebaliknya, bila senyawa radikal bebas bertemu dengan senyawa bukan radikal bebas, akan terjadi tiga kemungkinan:

- a. Radikal bebas akan memberikan elektron yang tidak berpasangan kepada senyawa yang bukan radikal bebas,
- b. Radikal bebas menerima elektron dari senyawa bukan radikal bebas,
- c. Radikal bebas bergabung dengan senyawa bukan radikal bebas.

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (*endogenous*) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein atau karbohidrat dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas dapat pula diperoleh dari luar tubuh (*eksogenous*) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan bermotor, asap rokok, berbagai bahan kimia, makanan yang terlalu hangus (*carbonated*) dan lain sebagainya (1,4). Beberapa jenis radikal bebas antara lain : Radikal superoksida ($O_2\bullet$), Radikal hidroksil ($OH\bullet$), Radikal nitrit oksida ($NO\bullet$), Hidrogen peroksida (H_2O_2), Radikal lipid peroksida (LOO) dan lain sebagainya (4).

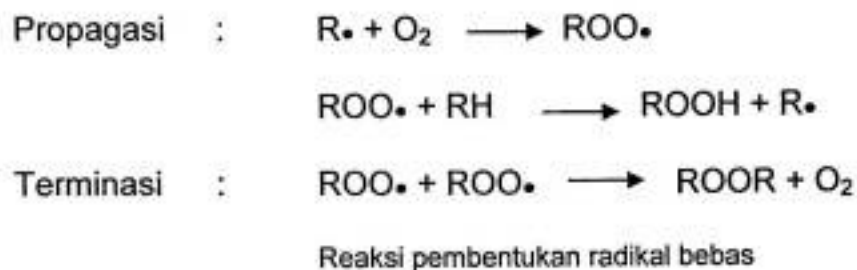
Terdapat empat sumber utama radikal bebas pada organisme hidup, yaitu pembentukan ATP pada mitokondria menggunakan molekul oksigen. Sejumlah kecil (2-3 % atau kurang) oksigen dalam mitokondria dapat terkonversi menjadi radikal superoksida yang dapat memicu terbentuknya hidrogen peroksida, radikal hidroksil, dan radikal bebas lainnya. Sumber lainnya, terutama pembentukan hidrogen peroksida adalah peroksisom, organel yang mendegradasi asam lemak. Sumber ketiga yaitu enzim sitokrom P-450. enzim ini membantu sel terutama paru-paru dan hati mendetoksifikasi sejumlah besar makanan, obat dan molekul polutan lingkungan yang berpotensi beracun. Sumber keempat yaitu sel darah putih (fagosit) yang menyerang mikroba dengan bantuan radikal bebas seperti radikal superoksida, radikal hidroksil, hidrogen peroksida dan radikal nitrit oksida (1).

II.2.1.2 Pembentukan Radikal Bebas

Reaksi pembentukan radikal bebas sebenarnya merupakan suatu mekanisme biokimia yang normal terjadi dalam tubuh melalui reaksi yang langsung memutuskan ikatan atau transfer elektron. Radikal bebas biasanya hanya bersifat perantara dan kemudian cepat diubah menjadi substansi lain yang tidak lagi membahayakan tubuh, misalnya pada reduksi oksigen menjadi molekul air. Namun, apabila radikal bebas bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh ganda, maka merupakan awal dari kerusakan sel. Dalam keadaan normal, terbentuknya radikal bebas ini akan diikuti oleh pembentukan antioksidan oleh tubuh agar terjadi keseimbangan antara peroksidan (radikal bebas) dan antioksidan, sehingga tidak merusak sel organisme tersebut (4).

Secara umum tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui 3 tahapan yaitu **inisiasi** : Awal pembentukan senyawa radikal bebas yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hidrogen, **propagasi** : Pemanjangan rantai radikal yaitu radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida dan radikal peroksida lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru, **terminasi** : Bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah (4).





II.2.1.3 Oksidasi Lipid

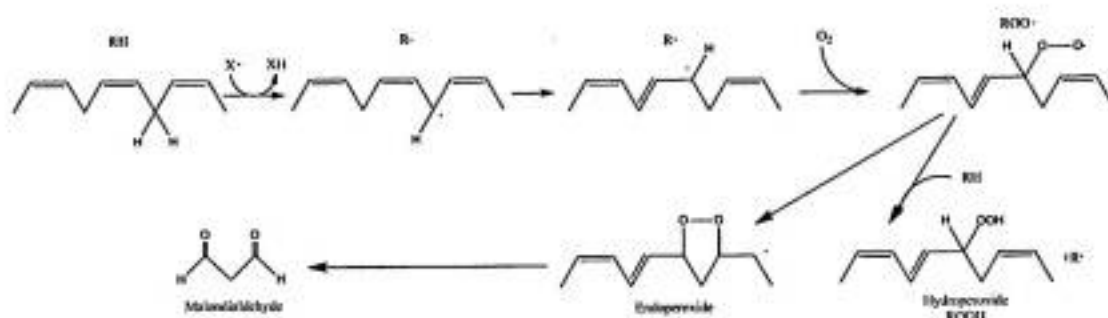
Lipid adalah kelompok heterogen dari beberapa komponen seperti lemak, minyak, steroid, lilin dan komponen yang lainnya yang berhubungan. Sifat-sifatnya pada umumnya relatif tidak larut air dan larut dalam pelarut nonpolar seperti eter dan kloroform (11).

Lipid merupakan komponen makanan yang penting bukan hanya karena nilai energi yang tinggi tetapi juga karena vitamin larut lemaknya dan asam-asam lemak esensial yang dikandung dalam lemak pada bahan makanan natural. Lemak disimpan dalam jaringan adiposa dan pada jaringan subkutan serta pada organ-organ tertentu. Kombinasi lipid dan protein merupakan kombinasi penting dalam suatu sel (11).

Membran sel yang merupakan barrier selektif yang melindungi sel di sekelilingnya, terdiri dari lipid-lipid tertentu. Kerusakan langsung oleh ROS (*species oxigen reactive*) pada lipid dari membran sel bisa menjadi masalah yang berbahaya karena sel akan menjadi rusak jika banyak lemak yang rusak.

Peroksidasi (oto-oksidasi) lipid yang dipaparkan dengan oksigen bertanggung jawab tidak hanya terhadap kerusakan makanan (ketengikan) tetapi juga terhadap kerusakan jaringan dalam tubuh yaitu

menjadi penyebab kanker. Efek yang merugikan ini dicetuskan oleh radikal bebas ($\text{ROO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$, $\text{OH}\cdot$) yang dihasilkan selama pembentukan peroksida dari asam lemak yang mengandung ikatan rangkap yang diselingi oleh metilen, yakni yang ditemukan dalam asam lemak tak jenuh di alam (11).



Gambar 3. Peroksidasi lipid

Reaksi ini dimulai dengan adanya radikal bebas ($\text{X}\cdot$) oleh cahaya atau ion logam. Malondialdehida hanya dibentuk oleh asam lemak dengan tiga atau lebih ikatan rangkap dan digunakan sebagai ukuran adanya peroksidasi lipid bersamaan dengan pembentukan etana yang berasal dari 2 atom karbon terminal dari asam lemak $\omega 3$ dan pentana dari 5 atom karbon terminal dari asam lemak $\omega 6$ (11).

II.2.1.4 Antioksidan

Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan terhadap efek buruk yang diakibatkan radikal bebas dengan tersedianya enzim yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu glutathion peroksidase (GSH), katalase dan superoksida dismutase (SOD). Akan tetapi dengan penambahan usia,

kekurangan gizi atau terganggunya keseimbangan sistem dalam tubuh, produksi kedua enzim tersebut menjadi berkurang sehingga tidak mampu lagi menangkal radikal bebas dalam tubuh. Dengan demikian tubuh memerlukan antioksidan tambahan dari luar yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini (12).

Secara umum, antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (1). Menurut Cuppert (1997) dan Disitir Widjaya (2003), antioksidan dinyatakan sebagai senyawa secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi (1,13).

Secara kimia, antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron. Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif radikal bebas dalam tubuh. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (1).

kekurangan gizi atau terganggunya keseimbangan sistem dalam tubuh, produksi kedua enzim tersebut menjadi berkurang sehingga tidak mampu lagi menangkal radikal bebas dalam tubuh. Dengan demikian tubuh memerlukan antioksidan tambahan dari luar yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini (12).

Secara umum, antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (1). Menurut Cuppert (1997) dan Disitir Widjaya (2003), antioksidan dinyatakan sebagai senyawa secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi (1,13).

Secara kimia, antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron. Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif radikal bebas dalam tubuh. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (1).

Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif (ROS) melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihannya akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif (1).

II.2.1.5 Klasifikasi Antioksidan

Secara umum, antioksidan dikelompokkan menjadi 2, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis (1).

1. Antioksidan enzimatis misalnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. **SOD** berperan dalam melawan radikal bebas pada mitokondria, sitoplasma dan bakteri aerob dengan mengurangi bentuk radikal bebas superoksida sedangkan **katalase** yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen dan berperan penting dalam mekanisme pertahanan sel darah merah terhadap oksidator hidrogen peroksida, **GSH** menghancurkan hidrogen peroksida, lipid peroksida dalam membran sel dan berperan penting dalam melindungi sel. Tetapi aktivitas enzim tersebut tergantung pada adanya logam ion logam. SOD pada logam Fe, Cu, Zn, dan Mn, katalase bergantung pada Fe dan GSH tergantung pada Se.

2. Antioksidan non-enzimatis masih dibagi lagi menjadi 2 kelompok, yakni:
 1. Antioksidan larut lemak, seperti α -tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin
 2. Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT) dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) merupakan contoh antioksidan yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersil (1,12). Sedangkan flavonoid, antrakuinon, vitamin C, vitamin E, dan β -karoten adalah beberapa contoh antioksidan alami. Antioksidan yang diisolasi dari sumber alami pada umumnya berasal dari tumbuhan. Sebagian besar dari senyawa antioksidan adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavanoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan tokoferol (1).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (1).

1. Antioksidan Primer

Antioksidan primer memiliki fungsi utama yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid ($R\cdot, ROO\cdot$) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil dibanding radikal lipida. *Belleville-Nabet* (1996) menyebutkan bahwa antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogenus atau enzimatis. Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas, dengan cara memutuskan reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang stabil. Antioksidan dalam kelompok ini disebut juga *chain-breaking-antioksidant*.

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan ini berfungsi memperlambat laju oksidasi dengan memberikan efek sinergis pada mekanisme kerja antioksidan primer, misalnya pada sistem makanan, asam sitrat dan asam askorbat sering ditambahkan sebagai antioksidan sekunder yang memberikan suasana asam pada medium. Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Antioksidan dalam kelompok ini juga disebut sistem pertahanan preventif. Dalam sistem pertahanan ini, terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan

logam atau dirusak pembentukannya. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C, beta karoten, flavonoid, antrakuinon, antosianin, isoflavon dan flavon.

3. Antioksidan tersier

Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksidan reduktase. Adanya enzim-enzim perbaikan DNA ini berguna untuk mencegah penyakit kanker, misalnya hasil berbagai penelitian dengan menggunakan hewan percobaan telah mendukung teori bahwa mengkonsumsi antioksidan yang memadai dapat mengurangi terjadinya berbagai penyakit seperti kanker, kardiovaskuler, katarak serta penyakit degeneratif lain.

II.2.1.6 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ($R\cdot$, $ROO\cdot$) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan yang lebih stabil dibanding radikal lipida.

Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil.

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (14).



Reaksi mekanisme antioksidan

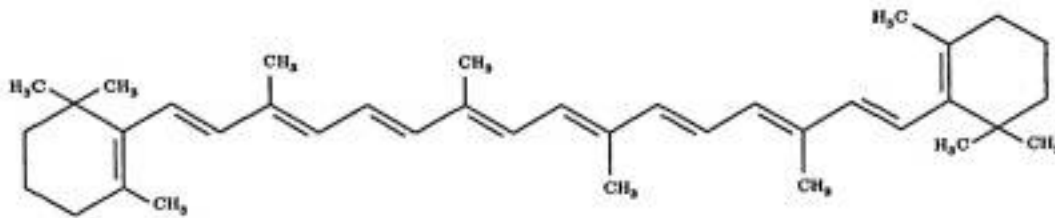
II.2.2. β -Karoten

Karotenoid merupakan sumber makanan utama pro-vitamin A di seluruh dunia, dengan β -karoten sebagai provitamin A karotenoid yang paling terkenal. Provitamin A terdapat dalam tanaman bersama-sama dengan klorofil. Pada umumnya provitamin A tidak terdapat pada jaringan hewan (hanya mengandung vitamin A yang banyak disimpan di dalam hati dalam bentuk alkohol), karena hewan mampu mengkonversi provitamin A menjadi vitamin A (15).

Provitamin A adalah pigmen berwarna kuning atau orange, yang memberi warna pada wortel, ubi, labu kuning, jagung kuning dan sebagainya. Juga terdapat dalam sayur-sayuran hijau dimana warna kuning tertutup oleh warna hijau klorofil. Konversi provitamin A menjadi vitamin A terjadi di dinding usus. Walaupun beta karoten dapat dipecah menjadi dua molekul vitamin A. Namun tidaklah semuanya dapat diserap tubuh. Diperkirakan sekitar 50% karoten yang dikonsumsi dapat dirombak menjadi vitamin A (15).

Provitamin A lebih stabil dibandingkan vitamin A. Hal ini mungkin disebabkan karena karotenoid terdapat dalam lokasi yang terhindar terhadap oksigen. Karotenoid di alam sebagian besar hidrokarbon yang larut dalam air dan lemak, serta berikatan dengan senyawa yang strukturnya menyerupai lemak. Karotenoid yaitu tetraterpenoid C_{40} , merupakan golongan pigmen yang larut lipid dan tersebar luas terdapat dalam semua jenis tumbuhan, mulai dari bakteri sederhana sampai ke *Compositae* (16).

Beberapa karoten yang terdapat dalam kromoplas tumbuhan, bermanfaat sebagai provitamin A untuk manusia. Karoten pertama kali diisolasi dari wortel. Karoten adalah campuran tetraterpen dengan 11 sampai 12 ikatan tak jenuh. Dari karoten yang terdapat dalam alam hanya mengandung cincin β -ionon yang mempunyai fungsi provitamin (α , β , γ - karoten). Warna merah karoten disebabkan oleh jumlah besar ikatan rangkap yang terkonjugasi (17).



Gambar 1. Struktur Beta-Karoten (18)

Semua provitamin A mempunyai persamaan pada bagian tengah struktur kimianya yang berupa rantai siklik alifatik simetris yang terdiri atas 18 atom karbon dan memiliki ikatan rangkap secara kontinyu. Rantai karbon alifatik tersebut mengandung empat gugusan metil. Perbedaan antara satu provitamin A dengan yang lainnya terletak pada struktur cincin yang terdapat di kedua sisi rantai karbon alifatik tersebut (18).

Karotenoid terbagi atas dua macam, yaitu :

1. Karoten : hidrokarbon, larut dalam petroleum eter.

Contoh : α -karoten, β -karoten dan γ -karoten

2. xantofil : turunan teroksigenasi dari karoten. Senyawanya adalah alkohol, aldehyd, keton, epoksid, dan asam-asam larut dalam etanol.

Contoh : monohidroksikaroten (misalnya lutein, rubixantin),

dihidroksikaroten (zeaxantin), atau dihidroksiepoksikaroten (violaxantin) (17).

Manfaat β -karoten ialah :

- a. Merangsang kekebalan tubuh dengan merangsang pembentukan makrofag, interferon, interleukin, dan memproduksi suatu zat yang disebut *tumor necrotizing factor* (TNF).

- b. Merupakan sumber vitamin A yang berkhasiat untuk meningkatkan daya tahan tubuh, terutama selaput lendir mata (mencegah kebutaan), selaput lendir saluran napas (mencegah penyakit pilek dan radang saluran napas lainnya), selaput lendir saluran cerna (mencegah diare dan radang usus lainnya), serta selaput lendir saluran kemih (mencegah infeksi saluran kemih).
- c. β -karoten mampu menurunkan kadar enzim SOD dan glutathion peroksidase dalam sel karsinoma. Potensi β -karoten untuk menangkap oksigen singlet diduga melalui ikatan rangkap yang berjumlah 9 pada rantai karbonnya. β -karoten juga dapat bereaksi dengan radikal peroksil membentuk radikal karotenoid peroksil, kemudian berubah menjadi karotenoid peroksida.
- d. Vitamin A diperlukan untuk pertumbuhan badan yang normal oleh golongan hewan yang menyusui dan memiliki fungsi yang khas pada selaput jala (retina). Retina manusia mempunyai dua macam sel penerima (reseptor), sel-sel batang dan sel-sel kerucut. Hewan yang hanya dapat melihat pada cahaya terang, seperti burung merpati, hanya memiliki sel-sel kerucut. Sedangkan hewan yang hanya dapat melihat pada malam hari, seperti burung hantu, hanya memiliki sel-sel batang. Hewan yang hanya memiliki sel-sel batang tidak dapat melihat warna, karena kemampuan melihat besar hanya disebabkan oleh adanya sel-sel kerucut. Sebagian besar daripada hewan bertulang belakang memiliki sel-sel batang dan sel-sel kerucut (17).

II.2.3. Vitamin E (α -Tokoferol)

α -Tokoferol adalah minyak yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan. α -Tokoferol paling banyak tersebar di alam dan mempunyai aktivitas biologik terbesar sebagai vitamin E. α -Tokoferol mudah diserap melalui usus halus, diangkut kehati mungkin dalam chylomicron, dan dikirim ke jaringan tepi dalam lipoprotein. Fosfolipid mitokondria reticulum endoplasma dan membran plasma mempunyai afinitas spesifik untuk α -tokoferol, dan vitamin nampak berkumpul pada tempat-tempat ini (11).

Vitamin E memiliki paling sedikit 2 peranan metabolik yaitu bekerja sebagai antioksidan alam yang paling kuat dan larut dalam lemak dan memainkan peranan yang spesifik. Kadar vitamin E di dalam lipoprotein plasma dan fosfolipid organela tergantung pada 4 faktor :

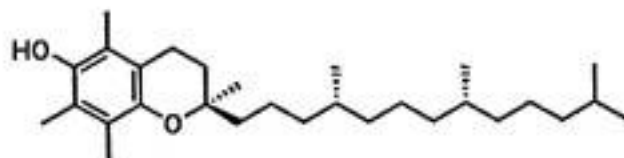
- (1) Jumlah α -tokoferol yang sedang dikonsumsi,
- (2) Kadar pro-oksidan dan antioksidan dalam makanan,
- (3) Kecukupan selenium dalam makanan,
- (4) Intake asam amino makanan yang mengandung sulfur.

Vitamin E merupakan garis depan pertahanan melawan peroksidasi fosfolipid sel dan membran subseluler. α -Tokoferol bekerja sebagai antioksidan pemutus rantai sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolik ke radikal peroksil (11).



Aktivitas antioksidan tokoferol (TocOH) yang memutus rantai menuju radikal peroksil ($\text{ROO}\cdot$).

Radikal fenoksi adalah resonant-stabilized dan relatif tidak bereaksi, kecuali menuju radikal peroksil lain. Dengan demikian, α -tokoferol tidak mudah melawan oksidasi reversible. Pada manusia, cincin kroman dan cincin samping α -tokoferol dioksidasi menghasilkan produk nonradikal (11).



Gambar 2. Struktur α -tokoferol (18)

Efek antioksidan tokoferol efektif pada konsentrasi tinggi oksigen, dan dengan demikian tidak mengherankan bahwa vitamin E cenderung terpusat dalam daerah-daerah lipid yang berhadapan dengan tekanan parsial oksigen yang tertinggi, seperti membran eritrosit dan membran saluran pernapasan (11).

Meskipun demikian, bahkan dengan adanya vitamin E yang cukup, beberapa peroksidase dibentuk. Glutation peroksidase, yang mana selenium merupakan komponen integral, melengkapi garis pertahanan kedua untuk menghancurkan peroksida, sebelum peroksida menyebabkan kerusakan membran. Dengan demikian, kerja biokimia vitamin E dan selenium merupakan pencegahan kerusakan peroksidatif terhadap unsur-unsur seluler dan subseluler, yang oleh karena itu melindungi organela

yang perlu untuk mengatasi penyakit, gangguan lingkungan fisik dan kimia, dan stress lain. Dengan mencegah peroksidasi (otooksidasi) lipid membran dari dalam, vitamin E mengurangi jumlah glutathion peroksidase yang dibutuhkan untuk merusak peroksida yang dibentuk di dalam sel (11).

II.3. Uji Efek Antioksidan dengan Metode Pemudaran β -Karoten

Metode pemudaran β -karoten merupakan metode untuk mengevaluasi efek antioksidan berdasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah atau menghambat pemudaran warna jingga karoten akibat oksidasi oleh radikal peroksida yang terbentuk pada reaksi oksidasi asam linoleat. Senyawa antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas yang terbentuk pada tahap awal reaksi, untuk mencegah reaksi lebih lanjut antara radikal bebas dengan oksigen yang dapat menghasilkan radikal peroksida yang sangat reaktif. Untuk selanjutnya, antioksidan juga berfungsi untuk menetralsir radikal peroksida dengan melepaskan atom hidrogen sehingga radikal yang terbentuk selama proses oksidasi tersebut akan terstabilkan akibat berikatan dengan atom hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel uji (9).

Asam linoleat merupakan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh memiliki ikatan ganda yang mudah bereaksi dengan oksigen atau mudah teroksidasi. Oksidasi dari asam linoleat akan membentuk radikal

peroksida. Pembentukan radikal peroksida dapat dilihat dari tahapan pembentukan reaksinya seperti di bawah ini.

Tahap permulaan atau inisiasi yaitu pembentukan radikal bebas baru oleh radikal hidroksil yang bereaksi dengan molekul lemak.



Tahap kedua yaitu propagasi dimana radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida dan radikal peroksida lebih lanjut akan menyerang molekul lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru.



Tahap ketiga yaitu terminasi. Beraksinya radikal asam lemak dengan radikal asam lemak yang lain sehingga menghasilkan radikal yang stabil.



Metode ini pertama kali digunakan pada tahun 1932 oleh Monaghan dan Schmitt yang membuktikan bahwa β -karoten dapat mencegah oksidasi dari asam linoleat. Hal ini dikarenakan β -karoten akan langsung bereaksi dengan radikal peroksida yang terbentuk akibat terjadinya oksidasi asam linoleat. Reaksi antara β -karoten dan radikal peroksida dapat secara langsung dibuktikan dengan melihat pemudaran warna jingga karoten. Hal ini dikarenakan radikal peroksida akan

menyerang ikatan rangkap terkonjugasi yang banyak pada senyawa β -karoten. Ikatan rangkap terkonjugasi ini yang memberikan warna jingga pada β -karoten. Efek antioksidan diuji dengan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 460 nm (9).

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan efek antioksidan adalah *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yang mampu menghambat 50% pemudaran β -karoten atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan penghambatan 50%. Zat yang mempunyai efek antioksidan tinggi akan mempunyai harga IC_{50} yang rendah. Penentuan daya hambat IC_{50} berdasarkan analisis regresi linier probit % penghambatan pemudaran β -karoten terhadap log konsentrasi larutan uji.

II.4. Metode Ekstraksi Bahan Alam

II.4.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental, kering atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (19).

II.4.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut berada di dalam sel, namun sel tanaman dan

hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut organik terhadap bahan segar atau kering. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar, sedangkan senyawa non polar diekstraksi dengan pelarut non polar. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (20).

II.4.3 Jenis-Jenis Ekstraksi

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara kering. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan soxhletasi (20).

II.5 Spektrofotometer UV-VIS

II.5.1. Pengertian Spektrofotometer

Spektrofotometer merupakan satu cabang analisis instrumen yang membahas tentang interaksi atau atom molekul dengan radiasi elektromagnetik (REM). Pada prinsipnya interaksi radiasi elektromagnetik dengan molekul menghasilkan satu atau dua macam kejadian yang

mungkin terjadi. Ketiga macam kejadian yang mungkin terjadi sebagai akibat interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik adalah hamburan (scattering), absorpsi (absorption) dan emisi (emission) (22).

Hamburan melahirkan spektrofotometer Raman, absorpsi melahirkan lembayung ultra (ultra violet) dan tampak (visible) serta spektrofotometri infra merah, sedangkan absorpsi yang disertai emisi melahirkan fotolumenisensi yang kemudian dikenal sebagai fluoresensi dan fosforesensi (21).

II.5.2 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat untuk mengukur transmitans dan serapan suatu contoh sebagai fungsi panjang gelombang. Pengukuran terhadap suatu deretan contoh pada suatu panjang gelombang tunggal mungkin juga dapat dilakukan (21).

Absorpsi cahaya UV dan cahaya tampak mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. Transisi ini memerlukan 40-300 kkal/mol. Energi yang terserap selanjutnya terbuang sebagai kalor, atau tersalurkan dalam reaksi kimia (misalnya isomerisasi atau reaksi radikal bebas) (21).

II.5.3 Prinsip

Apabila radiasi elektromagnetik pada daerah ultraviolet dan sinar tampak melalui senyawa yang memiliki ikatan-ikatan rangkap, sebagian

dari radiasi biasanya diserap oleh senyawa. Jumlah radiasi yang diserap tergantung pada panjang gelombang radiasi dan struktur senyawa. Penyerapan sinar radiasi disebabkan oleh pengurangan energi dari sinar radiasi pada saat elektron-elektron dalam orbital berenergi rendah tereksitasi ke orbital berenergi tinggi (21).

Hubungan antara kadar dengan intensitas sinar yang diserap oleh contoh yang dianalisis dinyatakan oleh hukum Lambert-Beer :

$$\text{Log } \frac{I_0}{I} = A = a \cdot b \cdot c$$

Dimana : I_0 = intensitas sinar sebelum melewati contoh

I = intensitas sinar setelah melewati contoh

A = absorban

a = absorpsivitas molekul

b = ketebalan kuvet

c = konsentrasi larutan

Oleh karena a dan b nilainya tetap, maka A berbanding lurus dengan C . Dalam penurunan hukum ini dianggap bahwa: (1) radiasi yang masuk adalah monokromatik, (2) spesies penyerap berkelakuan tidak tergantung satu sama lain dalam proses penyerapan, (3) penyerapan terjadi dalam volume yang mempunyai luas penampang yang sama, (4) dengan radiasi tenaga adalah cepat, dan (5) indeks bias tak tergantung pada konsentrasi (tidak berlaku pada konsentrasi yang tinggi) (22).

II.5.4. Absorpsi oleh senyawa

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra UV dan Visibel dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Oleh karena itu, serapan radiasi uv/visibel sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. Transisi-transisi biasanya antara orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan (23).

III.5.5 Perangkat Spektrofotometer

Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi :

1. Sumber Tenaga Radiasi

Sumber radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spectrum kontinyu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang yang sedang diamati. Sumber-sumber radiasi UV yang kebanyakan digunakan adalah hidrogen atau lampu deuterium. Terdiri dari sepasang elektroda yang terselebung dalam tabung gelas dan diisi dengan hidrogen atau deuterium pada tekanan yang rendah dengan panjang gelombang 180-350 nm dan digunakan juga lampu xenon, tetapi lampu xenon tidak se stabil lampu hidrogen. Selain itu sumber radiasi yang biasa digunakan adalah filament tungsten yang menghasilkan radiasi kontinyu dalam daerah antara 350-2500 nm.

2. Monokromator

Dalam spektrofotometer, radiasi polikromatik diubah menjadi monokromatik. Ada dua jenis alat yang digunakan yaitu penyaring dan monokromator. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan reaksi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif atau panjang gelombang tunggal.

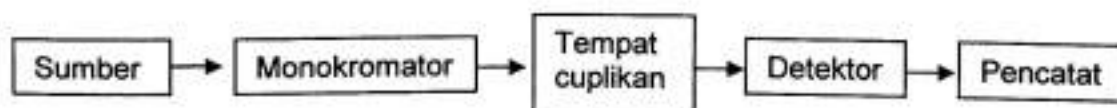
3. Tempat cuplikan

Larutan ditempatkan dalam sel atau kuvet. Untuk daerah visibel digunakan gelas biasa atau quartz. Sel untuk larutan mempunyai panjang 1-10 cm. Sebelum sel dipakai, harus dibersihkan dengan air atau jika dikehendaki dapat dicuci dengan larutan deterjen atau asam sitrat panas.

4. Detektor dan pencatat

Detektor menyerap tenaga foton yang mengenai cuplikan dan merubah tenaga tersebut untuk diukur secara kuantitatif seperti sebagai arus listrik atau perubahan-perubahan panas.

Kebanyakan detektor menghasilkan sinyal listrik yang dapat mengaktifkan meter atau pencatat. Persyaratan-persyaratan penting untuk detektor meliputi: (1) sensitivitas tinggi hingga dapat mendeteksi tenaga cahaya yang mempunyai tingkatan rendah sekalipun, (2) waktu respon yang pendek, (3) stabilitas yang panjang/lama untuk menjamin respon secara kuantitatif, dan (4) sinyal elektronik yang mudah diperjelas (21).



Gambar 4. Diagram sederhana Spektrofotometer

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan Yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah rotary mill (Retschmuhle), gelas ukur (Pyrex®), gelas piala (Pyrex®), labu tentukur 10 ml (Iwaki®), labu erlenmeyer (Pyrex®), mikropipet 10-100 µl dan 100-1000 µl (Socorex®), neraca analitik (Sartorius®), spektrofotometer UV-Vis (Hewlett Packard®).

Bahan-bahan yang digunakan adalah klika onkea (*Mezzettia parviflora* Becc.), β-karoten (Pharos), aluminium foil, air suling, etanol absolute (E merck®), aseton (E merck®), kloroform, etanol, asam linoleat (Safc), dan α-tochopherol (E merck®).

III.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

II.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel di peroleh dari Kabupaten Buton, Sulawesi Tenggara.

II.2.2 Penyiapan Sampel

Sampel berupa klika Ongkea disortasi terlebih dahulu kemudian dikeringkan, selanjutnya sampel diserbukkan dengan menggunakan *rotary mill*.

III.3 Ekstraksi dan Partisi

Sebanyak 1500 gram sampel yang telah diserbukkan dimasukkan kedalam wadah maserasi lalu ditambahkan etanol 70% hingga seluruh sampel terendam. Wadah lalu ditutup rapat dan dibiarkan selama 1 hari

sambil dilakukan pengadukan beberapa kali. Campuran kemudian disaring dan ampasnya ditambah lagi dengan pelarut etanol 70 %. Proses penyarian selanjutnya dilakukan sebanyak 4 kali. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan pelarutnya diuapkan hingga diperoleh ekstrak etanol kering sebanyak 282 gram. Selanjutnya ekstrak etanol kering dipartisi padat cair dengan aseton hingga didapatkan ekstrak larut aseton sebanyak 54 gram dan ekstrak tidak larut aseton sebanyak 153 gram.

III.4 Prosedur Uji Efek Antioksidan Dengan Metode Pemudaran β -Karoten

1. Penyiapan Larutan stok sampel

Ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol sebanyak 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan stok. Dari larutan stok dipipet 1000 μ l, 800 μ l, 600 μ l, dan 400 μ l kemudian dicukupkan 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm dan 40 ppm.

2. Penyiapan larutan stok standar α -tochopherol

Pembanding vitamin E ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan kloroform sebanyak 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan stok. Dari larutan stok dipipet 100 μ l, 80 μ l, 60 μ l, dan 40 μ l kemudian dicukupkan 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, 8 ppm, 6 ppm dan 4 ppm.

3. Pelaksanaan Pengujian Efek Antioksidan

β -Karoten murni sebanyak 50 mg ditambahkan asam linoleat 20 μ l kemudian dilarutkan dengan etanol dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml, setelah itu akan terbentuk larutan β -karoten. Sebanyak 200 μ l sampel uji ditambahkan dengan 1000 μ l larutan β -karoten, diinkubasi selama 2 jam pada suhu 50° C di waterbath. Selanjutnya diukur serapan pada panjang gelombang 460 nm setelah campuran diinkubasi selama 30 menit, 60 menit dan 120 menit. Sebagai blanko dilakukan pengukuran serapan sebelum inkubasi.

Besarnya persentase pemudaran β -karoten dihitung dengan rumus (11):

$$\% \text{ Pemudaran } \beta\text{-karoten} = (A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}) \times 100 \%$$

$$\% \text{ Penghambatan pemudaran } \beta\text{-karoten} = 100 - \% \text{ Pemudaran } \beta\text{-karoten}$$

Nilai IC_{50} ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase penghambatan pemudaran β -karoten.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Hasil uji efek antioksidan ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzetia Parviflora* Becc.) dengan menggunakan metode pemudaran β -karoten dengan masa inkubasi 120 menit menunjukkan bahwa :

1. IC_{50} dari ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.) sebesar 56,23 ppm,
2. IC_{50} dari vitamin E sebagai pembanding sebesar 2,75 ppm.

(Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran)

IV.2 Pembahasan

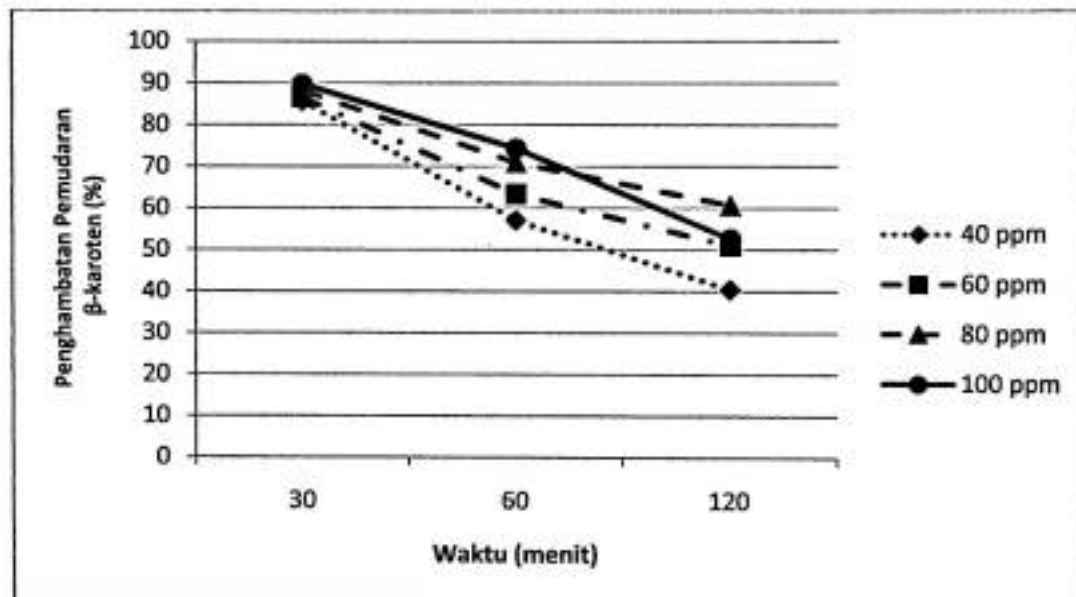
Pengujian efek antioksidan pada penelitian ini dilakukan terhadap ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.). Sampel kulit kayu yang telah kering digiling dengan tujuan agar luas permukaan menjadi lebih besar sehingga lebih banyak senyawa yang dapat ditarik keluar sel. Sampel yang telah halus kemudian dimaserasi dengan menggunakan cairan penyari etanol 70%. Ekstrak etanol kering lalu dipartisi menggunakan pelarut aseton. Didapatkan ekstrak larut dan tidak larut aseton. Partisi dimaksudkan agar ekstrak terbagi antara senyawa polar dan senyawa non polar.

Uji efek antioksidan dilakukan dengan metode *carotene bleaching* atau pemudaran β -karoten. Metode pemudaran β -karoten merupakan metode untuk mengevaluasi efek antioksidan berdasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah atau menghambat pemudaran warna jingga karoten akibat oksidasi oleh radikal peroksida yang terbentuk pada reaksi oksidasi asam linoleat.

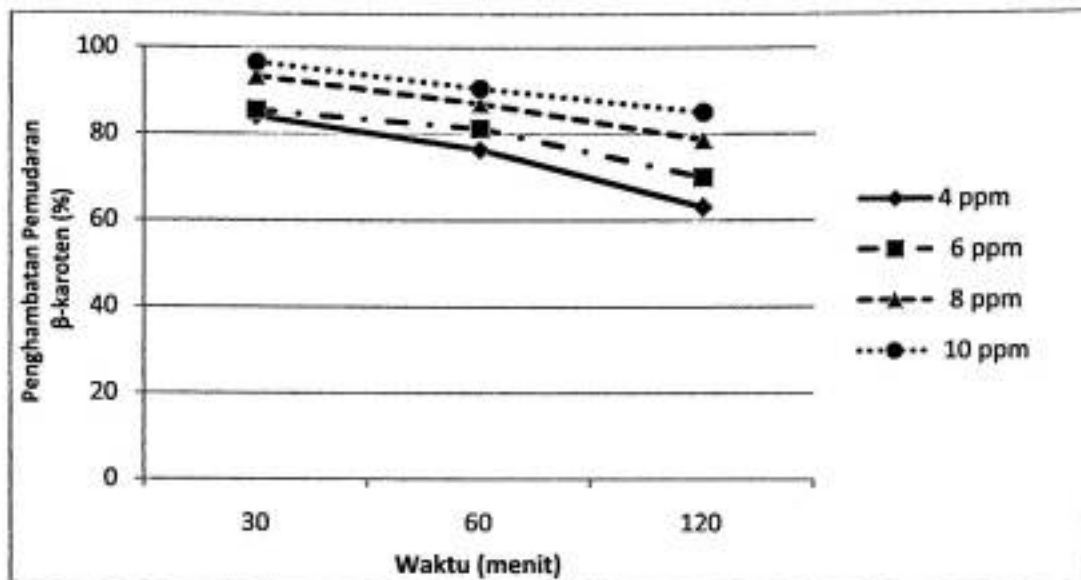
β -Karoten akan langsung bereaksi dengan radikal peroksida yang terbentuk akibat terjadinya oksidasi asam linoleat. Reaksi antara β -karoten dan radikal peroksida dapat secara langsung dibuktikan dengan melihat pemudaran warna jingga karoten. Hal ini dikarenakan radikal peroksida akan menyerang ikatan rangkap terkonjugasi yang banyak pada senyawa β -karoten. Ikatan rangkap terkonjugasi ini yang memberikan warna jingga pada β -karoten.

Radikal bebas asam linoleat dibentuk dari pemisahan atom hidrogen dari salah satu grup metilen dialilnya menyerang molekul β -karoten yang sangat tidak jenuh. Karena molekul β -karoten kehilangan ikatan rangkap melalui oksidasi maka senyawa tersebut akan kehilangan warna jingganya.

Berikut ini adalah grafik efek penghambatan pemudaran β -karoten setelah inkubasi setelah 30, 60 dan 120 menit.



Gambar 5. Grafik hubungan antara waktu dengan persentase penghambatan pemudaran β -karoten oleh Ekstrak Tidak larut aseton klinka *Mezzetia parviflora* Becc.).



Gambar 6. Grafik hubungan antara waktu dengan persentase penghambatan pemudaran β -karoten oleh vitamin E.

Grafik di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula persentase penghambatan pemudaran β -karoten dan persentase penghambatan pemudaran β -karoten semakin menurun seiring dengan banyaknya waktu.

Untuk perhitungan IC_{50} dipilih data setelah inkubasi 120 menit karena telah terjadi pemudaran β -karoten sekitar 50% pada menit ke-120. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa nilai IC_{50} Vitamin E sebesar 2,75 ppm, sedangkan ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.) memiliki IC_{50} sebesar 56,23 ppm. Hasil uji efek antioksidan menunjukkan bahwa efek perlindungan ekstrak klika Ongkea terhadap oksidasi β -karoten 20 kali lebih lemah dibandingkan dengan efek Vitamin E.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Hasil uji efek antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC_{50} penghambatan pemudaran β -karoten ekstrak tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.) adalah 56,23 ppm lebih lemah dibandingkan dengan efek kontrol positif vitamin E yang memiliki IC_{50} 2,75 ppm.

V.2 Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian untuk uji lanjutan terhadap ekstrak larut aseton klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.).

DAFTAR PUSTAKA

1. Winarsi, H. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanasius. Jogjakarta. 2007. Hal 11-13,15-16,77-82.
2. Sofia, D. 2005. *Antioksidan dan Radikal Bebas*. [article on the internet]. 2005 [cited June 8, 2009]. Available from <http://www.chemis-try.org>.
3. Tan H.T., & Rahardja, K. *Obat-Obat Penting*. Ed 5. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta. 2002. Hal 602.
4. Gitawati, R. 1995. Radikal bebas–sifat dan peran dalam menimbulkan kerusakan/kematian sel. *Cermin dunia kedokteran*. Vol. 33, No. 102, hal 1-4.
5. Hakim, E.H., Achmad, S.A., Makmur, L., Mujahidin, D., & Syah, Y.m., 2001. Profil kimia Annonaceae, *Bull Soc. Nat. Prod. Chem.*, Vol. 1, No. 1, Januari-Juni 2001.
6. Rafi, A.R., Fraksinasi dan Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) Secara In Vitro. *Skripsi Fakultas Farmasi, UNHAS*. Makassar. 2008. hal. 5-6.
7. Mufidah, Manggau, M.A., Bariun, H., & Alam, G. Anti Platelet Aggregation and Free Radical Scavenging Activities of *Mezzettia parviflora* BECC. Woodbark Ethanollic Extract. *Makassar International Symposium on Pharmaceutical Science (MIPS)*. Makassar. Maret 19-20. Maret 2009.
8. Mufidah, Manggau, M.A., Alam, G., Rusdi & Evary, M.Y. Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.), Kaitannya Dengan Kemampuan Menghambat Enzim Siklooksigenase. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 12, No. 3 November 2008. Hal 85-86.
9. Utami, S.T., Abianti, R., Hermansyah, H., & Reza, A. Perbandingan Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Simpup (*Dillenia indica*) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA. *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*. Bandung. 19-20 oktober 2009.

10. Heyne, K. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid II. Cetakan ke-1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta. 1987. hal. 771.
11. Murray, K.R., Mayes, A.P., Granner K.D., Rodwell W.V., Martin, W. D. Harper's Illustrated Biochemistry. Ed. 20. Lange Medical Publications. United States of America. 2003. hal. 111, 118-120, 138-139.
12. Sapri. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kayu Bayur Sulawesi (*Pterospermum celebicum* Miq.) dengan Metode Penangkapan Radikal Bebas DPPH (2,2-diphenil-1-picryl-hydrazyl). *Skripsi* Fakultas Farmasi, UNHAS. Makassar. 2009. hal. 6.
13. Trilaksana W. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. Makalah disajikan dalam Situs Internet Graduate Program S3. Institut Pertanian Bogor. Posted 11 Juni 2003.
14. Ardiansyah. 2009. *Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan*. [cited 11 Nov 2009]. Available from <http://www.netsains.com>.
15. Andarwulan, N., *Kimia Vitamin*, CV. Jakarta. Rajawali. 1992. hal. 210.
16. Harborne JB. 1984. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. 1987. Bandung. Penerbit ITB. hal. 158.
17. Fatimah, S., Analisis Kandungan Beta Karoten dalam Buah Terung Belanda (*Chypomandra betacea* Sendth.). *Skripsi* Fakultas Farmasi, UNHAS. Makassar. 2008.
18. Winarno, G.F., *Kimia Pangan dan Gizi*. Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian dan Fakultas Pasca Sarjana ITB. Jakarta. PT Gramedia Pustaka Utama. 1992. hal. 128.
19. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Farmakope Indonesia*. Ed. 3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1979. hal. 9.
20. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1986. hal. 10.
21. Sastroamidjojo H. *Spektroskopi*. Penerbit Liberty. Yogyakarta. 1985. hal. 11-15.

22. Solomons TWG, *Organic Chemistry*. 2nd edition. John Willey and Sons. University of South Florida. New York. 1980. hal. 413.
23. Roth, JH, Blaschke. *Analisis Farmasi*. Terjemahan oleh Kisman dan Ibrahim S. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 1994.
24. Elzaaweely, A.A., Xuan T.D., & Tawata S. Antioksidant and Antibakterial Activities of Rumex Japonicus Houtt. *Bio. Pharm. Bull.* Desember 2005. 28 (12). Pp. 2225-2230.
25. Takada, H., Kokubo, K., Matsubayashi, K., & Oshima, T. Antioxidant Activity of Supramolecular Water-Soluble Fullerenes Evaluated by β -karoten Bleaching Assay. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* Desember 2006. 70 (12). 3088-3093.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Serapan β -Karoten Pada Pengujian Aktivitas Ekstrak Tidak Larut Aseton Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.) dengan Metode Pemudaran β -Karoten.

Konsentrasi Ekstrak	Pembacaan Serapan Pada Menit Ke-		
	30	60	120
100 ppm	0.81049	0.68841	0.34818
	0.79435	0.65203	0.50800
	0.79710	0.60065	0.43481
Rata-rata	0.80065	0.64703	0.43033
80 ppm	0.78863	0.62718	0.41733
	0.79027	0.61258	0.51893
	0.77557	0.59869	0.59413
Rata-rata	0.78482	0.61282	0.51013
60 ppm	0.77358	0.62445	0.46310
	0.77358	0.50147	0.38960
	0.76008	0.48567	0.38951
Rata-rata	0.76908	0.53720	0.41407
40 ppm	0.77914	0.49883	0.35934
	0.75738	0.47062	0.31697
	0.74224	0.45408	0.24949
Rata-rata	0.75959	0.47451	0.30860
Kontrol (Tanpa Ekstrak)	0.62382	0.47256	0.23600
	0.58091	0.41387	0.21058
	0.61694	0.36524	0.23200
Rata-rata	0.60722	0.41722	0.22619
Blanko *)	0.91124		
	0.88590		
	0.91414		
Rata-rata	0.90376		

Ket : *) Serapan blanko diukur sebelum diinkubasi

Tabel 2. Hasil Pengukuran Serapan β -Karoten Pada Pengujian Aktivitas Vitamin E dengan Metode Pemudaran β -Karoten.

Konsentrasi Vitamin E	Pembacaan Serapan Pada Menit Ke-		
	30	60	120
10 ppm	0.59408	0.53681	0.48385
	0.59677	0.51841	0.46700
	0.58225	0.53685	0.47680
Rata-rata	0.59103	0.53069	0.47588
8 ppm	0.57453	0.51320	0.42757
	0.54710	0.49223	0.41660
	0.55465	0.48453	0.39159
Rata-rata	0.55876	0.49665	0.41192
6 ppm	0.48294	0.43709	0.34204
	0.48215	0.44809	0.32531
	0.47593	0.42902	0.30704
Rata-rata	0.48034	0.43807	0.32480
4 ppm	0.46110	0.40326	0.25934
	0.46405	0.37335	0.24039
	0.47275	0.39208	0.26812
Rata-rata	0.46597	0.38956	0.25595
Kontrol (Tanpa Vitamin E)	0.40572	0.26672	0.24133
	0.40378	0.24709	0.27184
	0.38218	0.26570	0.24224
Rata-rata	0.39723	0.25984	0.25180
Blanko *)	0.63027		
	0.63161		
	0.61353		
Rata-rata	0.62514		

Ket : *) Serapan blanko diukur sebelum diinkubasi

Tabel 3. Harga probit sesuai persentasenya

PROSENTASE	PROBIT									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,66	7,75	7,88	8,09

Sumber: (Soekardjo, B, Siswandono. 1995. Prinsip-prinsip Rancangan Obat)

Tabel 4. Persentase Penghambatan Pemudaran β -karoten oleh Ekstrak Tidak Larut Aseton Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.).

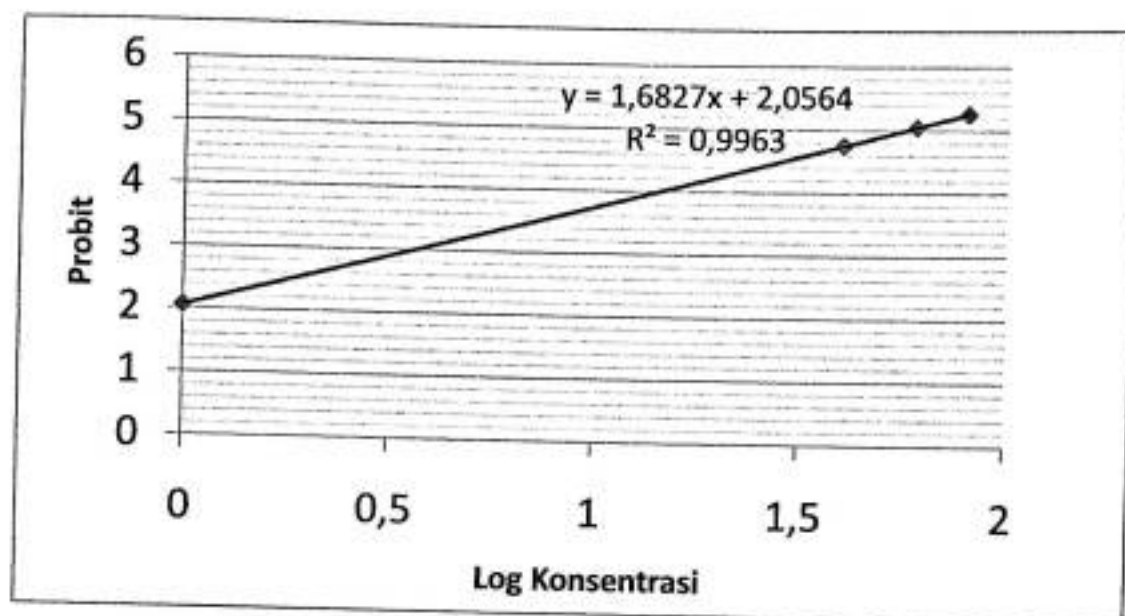
	Serapan rata-rata ($A_{rata-rata}$) Setelah Menit ke-	$A_{blanko} - A_{ekstrak}$	% Pemudaran β -karoten	% Penghambatan Pemudaran β -karoten
Ekstrak 100 ppm				
30 Menit	0,80065	0,10311	10,31	89,69
60 Menit	0,64703	0,25673	25,67	74,33
120 Menit	0,43033	0,47343	47,34	52,66
Ekstrak 80 ppm				
30 Menit	0,78482	0,11894	11,89	88,11
60 Menit	0,61282	0,29094	29,09	70,91
120 Menit	0,51013	0,39363	39,36	60,64
Ekstrak 60 ppm				
30 Menit	0,76908	0,13468	13,47	86,53
60 Menit	0,53720	0,36656	36,66	63,34
120 Menit	0,41407	0,48969	48,97	51,03
Ekstrak 40 ppm				
30 Menit	0,75959	0,14417	14,42	85,58
60 Menit	0,47451	0,42925	42,92	57,08
120 Menit	0,30860	0,59516	59,52	40,48

Tabel 5. Persentase Penghambatan Pemudaran β -karoten oleh Vitamin E

	Serapan rata-rata ($A_{rata-rata}$) Setelah Menit ke-	$A_{\text{blanko}} - A_{\text{Vit E}}$	% Pemudaran β -karoten	% Penghambatan Pemudaran β -karoten
Vit E 10 ppm				
30 Menit	0,59103	0,03411	3,41	96,59
60 Menit	0,53069	0,09445	9,44	90,56
120 Menit	0,47588	0,14926	14,93	85,07
Vit E 8 ppm				
30 Menit	0,55876	0,06638	6,64	93,36
60 Menit	0,49665	0,12849	12,85	87,15
120 Menit	0,41192	0,21322	21,32	78,68
Vit E 6 ppm				
30 Menit	0,48034	0,13468	14,48	85,52
60 Menit	0,43807	0,36656	18,71	81,29
120 Menit	0,32480	0,48969	30,03	69,97
Vit E 4 ppm				
30 Menit	0,46597	0,15917	15,92	84,08
60 Menit	0,38956	0,23558	23,56	76,44
120 Menit	0,25595	0,36919	36,92	63,08

Tabel 6. Hasil Perhitungan IC_{50} setelah inkubasi selama 120 menit

Ekstrak	Konsentrasi ppm	Log Konsentrasi (x)	% Penghambatan Pemudaran β -karoten	Probit (y)	Persamaan Garis linear	IC_{50} (ppm)
Tidak Larut Aseton	80 ppm	1,9031	60,64	5,2692	$y=2,0564+1,6827x$ $R^2= 0,996$	56,23
	60 ppm	1,77815	51,03	5,0306		
	40 ppm	1,60206	40,48	4,7596		
Vitamin E	10 ppm	1	85,07	6,0428	$y=4,2124+1,7793x$ $R^2= 0,9606$	2,75
	8 ppm	0,9031	78,68	5,7972		
	6 ppm	0,77815	69,97	5,5194		
	4 ppm	0,60206	63,08	5,3324		



Gambar 7. Grafik Hubungan antara Log Konsentrasi Ekstrak Tidak Larut Aseton Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.) dengan Nilai Probit

Ket : Perhitungan IC_{50} Ekstrak Tidak Larut Aseton

$$y = a + bx$$

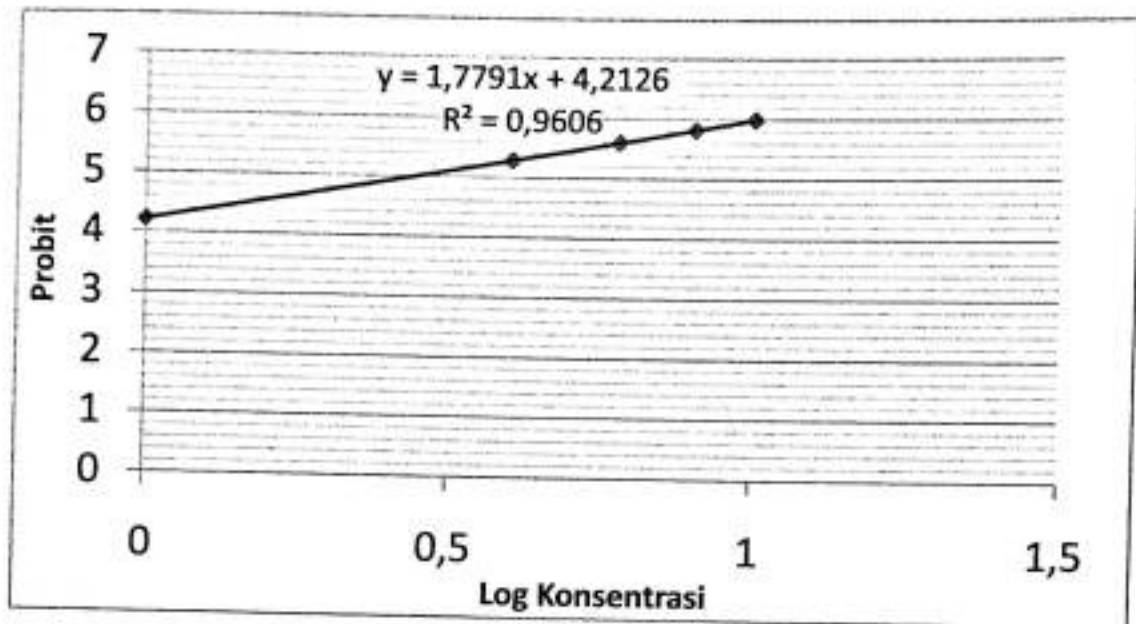
$$y = 2,0564 + 1,6827x$$

$$5 = 2,0564 + 1,6827x$$

$$x = \frac{5 - 2,0564}{1,6827}$$

$$x = 1,75$$

$$IC_{50} = \text{anti Log } (x) = 56,23 \text{ ppm}$$



Gambar 8. Grafik Hubungan antara Log Konsentrasi Vitamin E dengan Nilai Probit

Ket : Perhitungan IC_{50} Vitamin E

$$y = a + bx$$

$$y = 4,2124 + 1,7793x$$

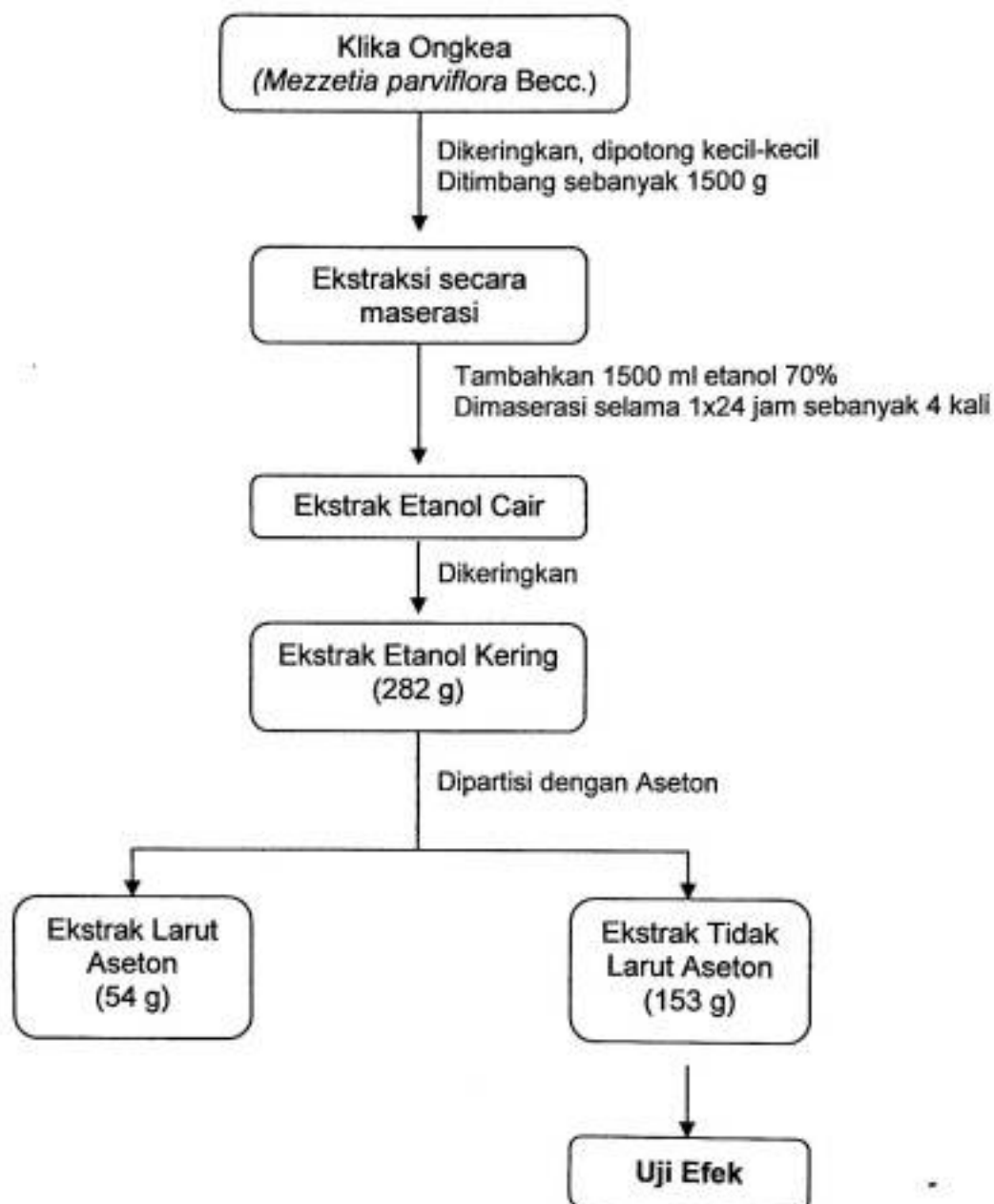
$$5 = 4,2124 + 1,7793x$$

$$x = \frac{5 - 4,2124}{1,7793}$$

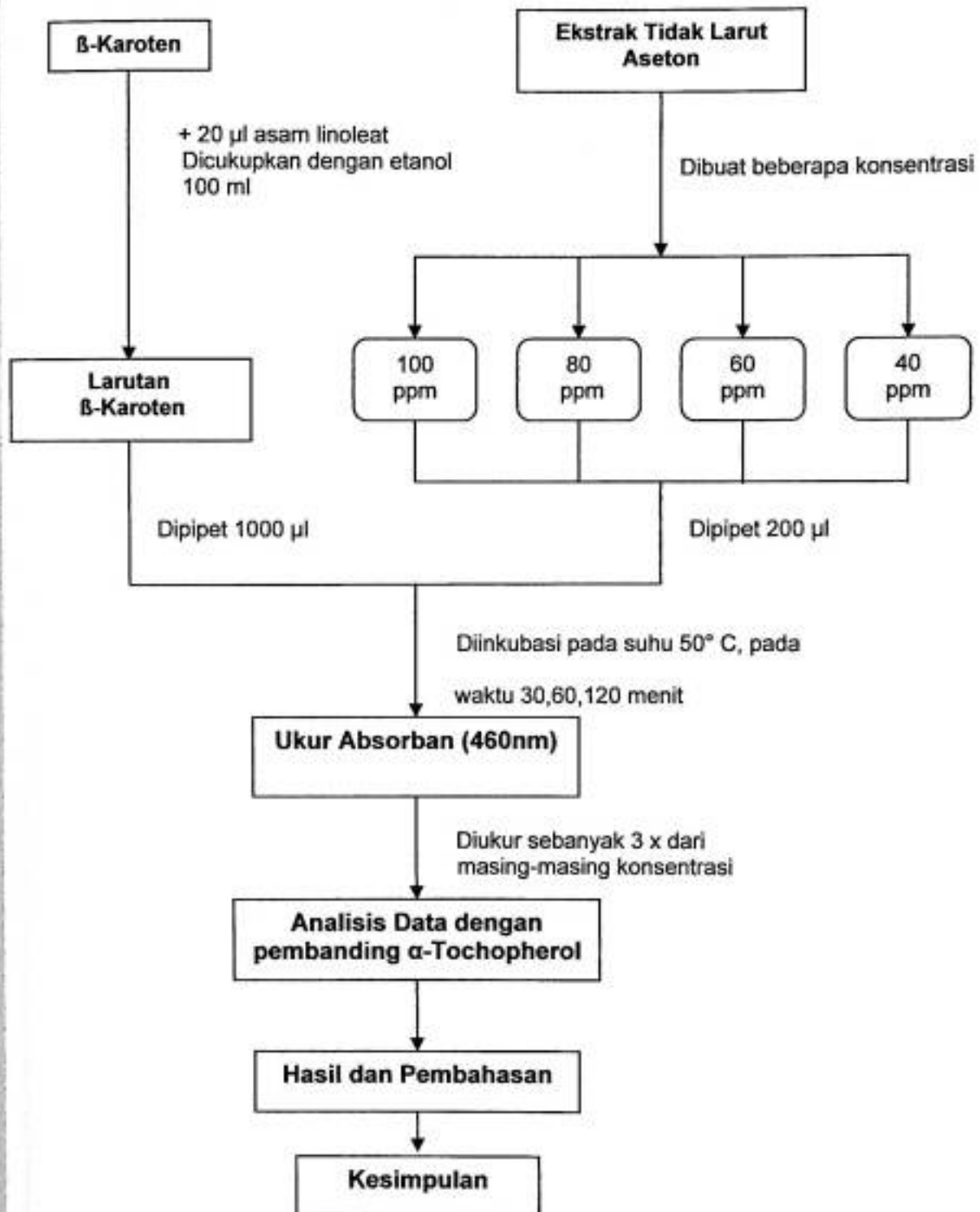
$$x = 0,44$$

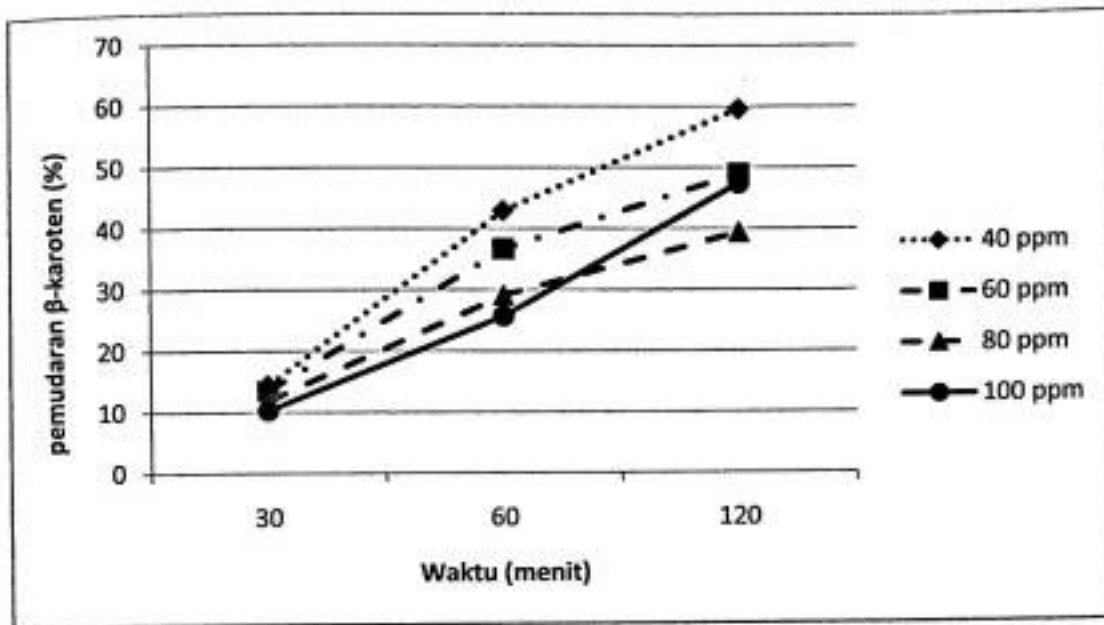
$$IC_{50} = \text{anti Log } (x) = 2,75 \text{ ppm}$$

Lampiran 1. Skema Kerja Ekstraksi dan Partisi

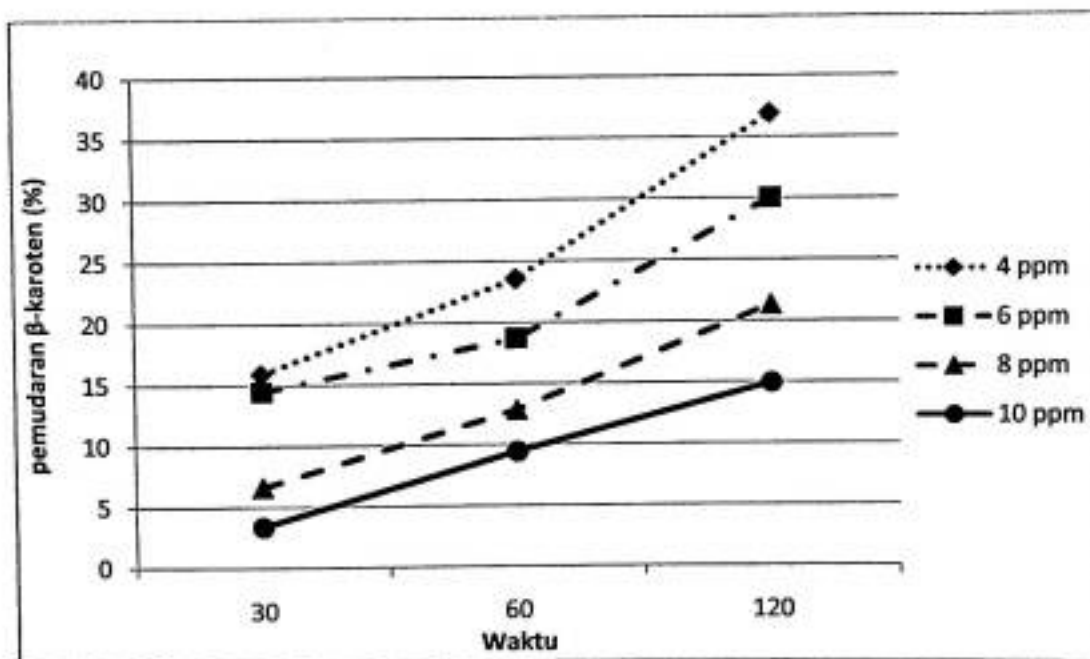


Lampiran 2. Skema Kerja Efek Antioksidan Ekstrak Tidak Larut Aseton Klika Ongkea dengan Metode Pemudaran β -Karoten

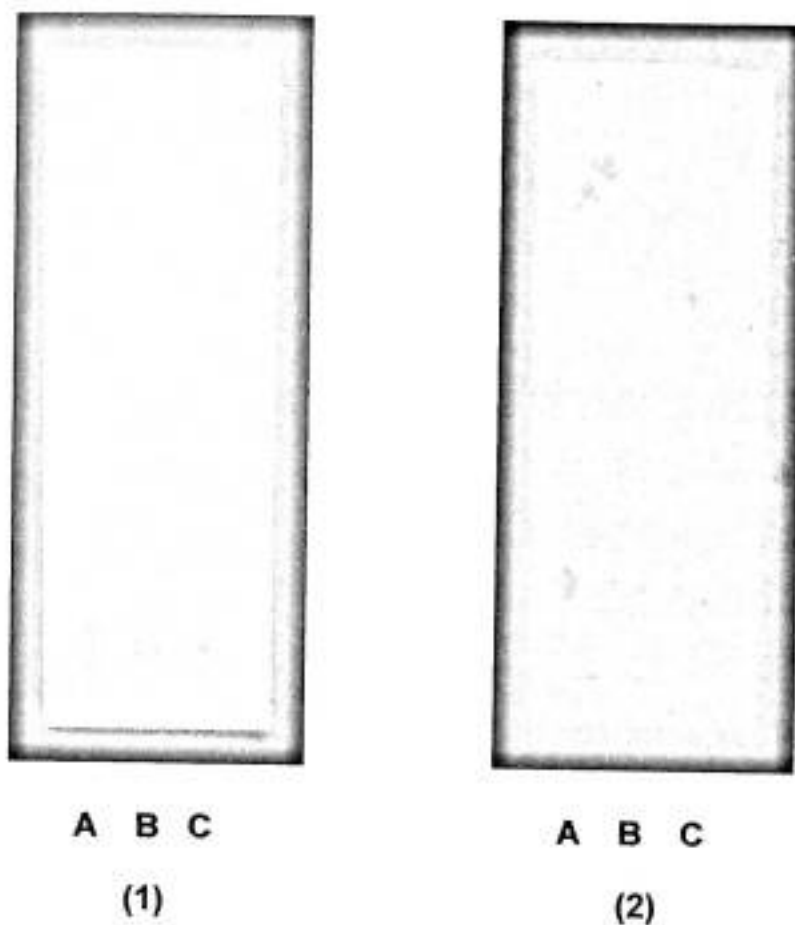




Gambar 9. Grafik hubungan antara waktu dengan persentase pemudaran β -karoten oleh Ekstrak Tidak larut aseton klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.).



Gambar 10. Grafik hubungan antara waktu dengan persentase pemudaran β -karoten oleh vitamin E.



Gambar 11. Profil KLT Ekstrak Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

Keterangan gambar :

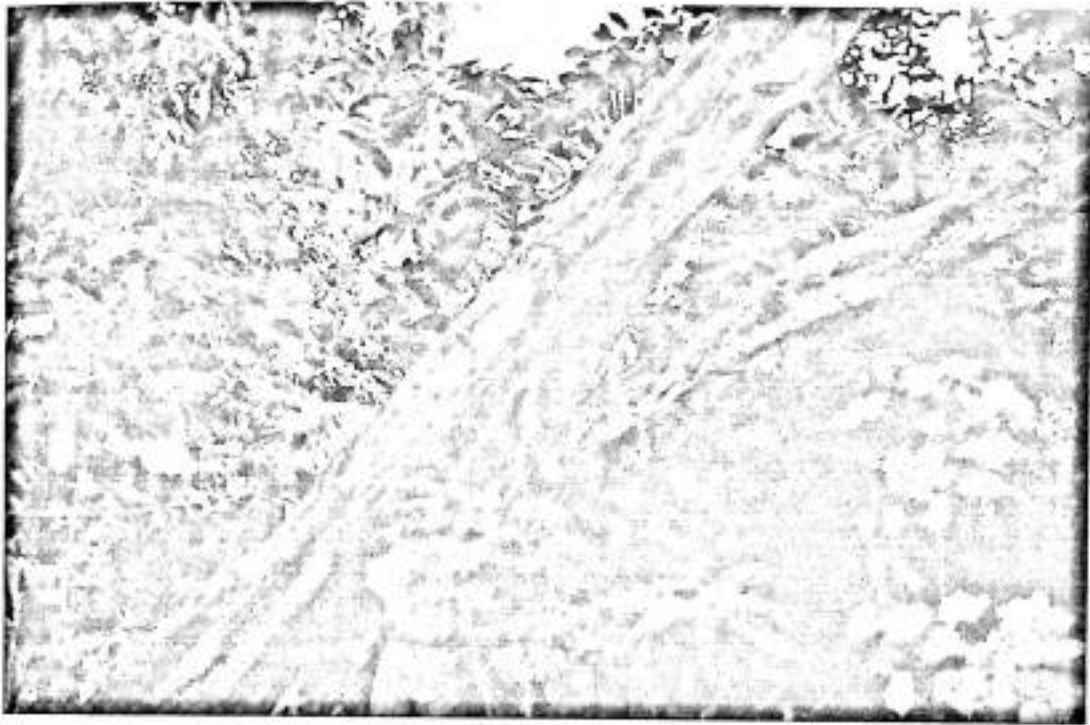
- A. Ekstrak Etanol
- B. Ekstrak Larut Aseton
- C. Ekstrak Tidak Larut Aseton

Fase gerak : Heksan : Etil Asetat (1: 5)

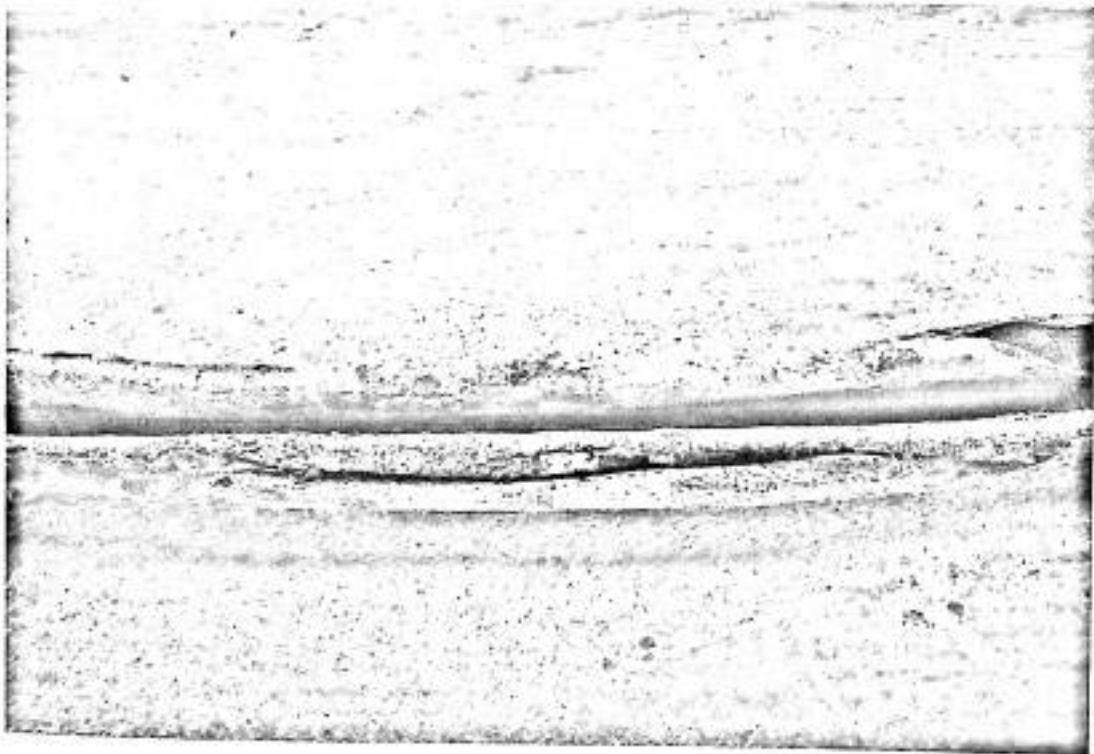
Fase diam : Lempeng silika gel 60 F 254

Penampak noda : (1) UV 254 nm

(2) UV 366 nm



Gambar 12. Tanaman Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.)



Gambar 13. Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.) Yang Telah dikeringkan