

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA FRAKSI
EKSTRAK ETANOL DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia*
L.) MENGGUNAKAN METODE ABTS, DPPH, DAN
FRAP**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME FRACTION OF
LEGUNDI LEAVES ETHANOL EXTRACT (*Vitex*
trifolia L.) BY USING ABTS, DPPH, AND FRAP
METHODS**

**MUH. SARMAN
N011 18 1331**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK
ETANOL DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) MENGGUNAKAN METODE
ABTS, DPPH, DAN FRAP**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME FRACTION OF LEGUNDI LEAVES
ETHANOL EXTRACT (*Vitex trifolia* L.) BY USING ABTS, DPPH, AND
FRAP METHODS**

SKRIPSI

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

**MUH. SARMAN
N011 18 1331**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK
ETANOL DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) MENGGUNAKAN METODE
ABTS, DPPH, DAN FRAP**

MUH. SARMAN

N011 18 1331

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.

NIP. 19641231 199002 1 005

Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.

NIP. 19561011 198603 2 002

Pada Tanggal, ^{19 Mei}..... 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK
ETANOL DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) MENGGUNAKAN METODE
ABTS, DPPH, DAN FRAP**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME FRACTION OF LEGUNDI LEAVES
ETHANOL EXTRACT (*Vitex trifolia* L.) BY USING ABTS, DPPH, AND
FRAP METHODS**

Disusun dan diajukan oleh:

**MUH. SARMAN
N011 18 1331**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 19 Mei 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



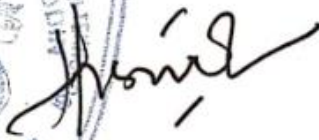
Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005



Dra. Rosany Tayeb, 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., PhD., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Muh. Sarman

Nim : N011 18 1331

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Ekstrak Etanol Daun Legundi (*Vitex trifolia* L.) Menggunakan Metode ABTS, DPPH, dan FRAP" 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, 19 Mei 2022

Yang menyatakan,



Muh. Sarman

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil'alamiin segala puji dan syukur bagi Allah SWT atas segalamrahmat dan karunia-Nya yang memberikan kesehatan, kekuatan baik fisik maupun mental sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan dapat memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih dan rasa hormat yang tulus kepada beberapa pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik itu moral maupun bantuan material dalam penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini meskipun banyak hal sulit yang dihadapi. Penulis mengucapkan rasa syukur dan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam M.Si., Apr. selaku pembimbing utama saya dan Ibu Dra. Rosany Tayeb M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan serta saran dan sabar terhadap penulis pada saat proses penyusunan skripsi ini.
2. Muhammad Aswad S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Prof. Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.

3. Prof. Subehan S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing 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. Sahabat-sahabat penulis, Irfan, Awal, Ryan, Koko, Hartina, Ratu, Jannah, Ainun, Asti, Alung, Bujang, Hilda, Aas, dan Tifania, untuk setiap dukungan, doa, semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
6. Rekan-rekan Korps. Asisten Farmakognosi-Fitokimia yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.
7. Teman Teman Sobat Infarma yang selalu memberikan bantuan dan dorongan semangat kepada penulis
8. Teman-teman angkatan "GEMF18ROZIL" atas kebersamaan yang diberikan selama penulis berada di bangku perkuliahan, melewati suka dan duka dalam perkuliahan dan selama penyelesaian skripsi.

9. Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada Almarhum dan Almarhumah orang tua penulis serta Almarhumah Ibu Tiri penulis yang baru saja meninggal bulan Januari, yang telah merawat dan membesarkan saya walaupun tidak sempat melihat saya sarjana, serta keluarga penulis yang tanpa henti memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis.
10. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam sumbangsih ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi dan dapat dijadikan acuan untuk mengembangkan penelitian penelitian selanjutnya.

Makassar, 19 Mei 2022



Muh. Sarman

ABSTRAK

MUH. SARMAN Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Hasil Partisi Ekstrak Etanol Daun Legundi (*Vitex trifolia*) Menggunakan Metode ABTS, DPPH, dan FRAP (Dibimbing oleh Gemini Alam and Rosany Tayeb).

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam tubuh yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas sehingga dapat mencegah reaksi oksidatif penyebab berbagai macam penyakit. Daun legundi (*Vitex trifolia*) merupakan salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami karena memiliki aktivitas antioksidan. Dalam penelitian yang ada sebagian besar hanya mengungkapkan potensi *V. trifolia* sebagai antiradikal. Tapi kandungan senyawa dalam *V. trifolia* yang bertindak sebagai antiradikal masih sangat minim yang diteliti. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antioksidan beberapa fraksi hasil partisi ekstrak etanol daun *V. trifolia* menggunakan metode ABTS, DPPH, dan FRAP. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil nilai IC_{50} yang berbeda beda pada tiap metode. Pada metode ABTS rata-rata nilai IC_{50} yang didapatkan fraksi heksan 830,278 ppm, fraksi kloroform 133,54 ppm, fraksi butanol 28,06 ppm, dan fraksi air 56,39 ppm. Untuk metode DPPH rata-rata nilai IC_{50} yang didapatkan fraksi heksan 982,22 ppm, fraksi kloroform 196,50 ppm, fraksi butanol 36,64 ppm, dan fraksi air 138,61 ppm. Sedangkan untuk metode FRAP rata-rata nilai IC_{50} yang didapatkan fraksi heksan 899,72 ppm, fraksi kloroform 576,17 ppm, fraksi butanol 162,80 ppm, dan fraksi air 387,40 ppm. Berdasarkan hasil penelitian fraksi butanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat di tiga metode yang digunakan.

Kata Kunci : *Vitex trifolia* L., Antioksidan, IC_{50}

ABSTRACT

MUH. SARMAN Antioxidant Activity Of Some Fraction Of Legundi Leaves Ethanol Extract (*Vitex Trifolia L.*) By Using Abts, Dpph, And Frap Methods Supervisor (Gemini Alam and Rosany Tayeb).

Antioxidants are important compounds in the body that serves to ward off free radicals to prevent oxidative reactions that cause various diseases. Legundi leaf (*Vitex trifolia*) is one of the natural ingredients that can be used as a natural antioxidant because it has an antioxidant effect. Most of the existing studies only reveal the potential of *V. trifolia* as an antiradical. But the content of compounds in *V. trifolia* that act as anti-radicals is still very minimal that has been studied. Therefore, in this study, the antioxidant activity of several fractions of the partitioned ethanol extract of *V. trifolia* leaves will be tested using the ABTS, DPPH, and FRAP methods. Based on the research that has been done, the results of the IC₅₀ values are different for each method. In the ABTS method, the average IC₅₀ value obtained was 830.278 ppm hexane fraction, 133.54 ppm chloroform fraction, 28.06 ppm butanol fraction, and 56.39 ppm water fraction. For the DPPH method, the average IC₅₀ value obtained was 982.22 ppm hexane fraction, 196.50 ppm chloroform fraction, 36.64 ppm butanol fraction, and 138.61 ppm water fraction. Meanwhile, for the FRAP method, the average IC₅₀ value obtained was 899.72 ppm hexane fraction, 576.17 ppm chloroform fraction, 162.80 ppm butanol fraction, and 387.40 ppm water fraction. Based on the research results, butanol fraction has strong antioxidant activity in three method used

Keywords: *Vitex trifolia* L., Antioxidants, IC₅₀

DAFTAR ISI

DHALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah.....	4
I.3 Tujuan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Uraian Umum Tumbuhan Legundi (<i>Vitex trifolia</i> L)	5
II.1.1 Klasifikasi <i>Vitex trifolia</i> L.	5
II.1.2 Morfologi Tumbuhan.....	5
II.1.3 Kandungan Kimia	6
II.2 Partisi	8
II.3 Radikal Bebas	9

II.3.1 Pengertian Radikal Bebas	9
II.3.2 Sumber Radikal Bebas	10
II.4 Antioksidan	11
II.5 Metode Analisis Antioksidan	14
II.5.1 Metode ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat))	14
II.5.2 Metode DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil)	15
II.5.3 Metode FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power)	Error!
	Bookmark not defined.
II.6 Spektrofotometri Uv- Vis	Error! Bookmark not defined.
II.7 Microplate Reader	Error! Bookmark not defined.
BAB III METODE PENELITIAN	
III.1 Alat dan Bahan	16
III.2 Metode Kerja	16
III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel	16
III.2.2 Partisi Sampel	16
III.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan	Error! Bookmark not defined.
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
IV.1 Hasil Analisis Rendemen Partisi	17
IV.2 Hasil Pembuatan Larutan	Error! Bookmark not defined.

IV.2 Uji Aktivitas Antioksidan Metode ABTS	17
IV.3 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.....	Error! Bookmark not defined.
IV.4 Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP	Error! Bookmark not defined.
 BAB V PENUTUP	 18
DAFTAR PUSTAKA	19
LAMPIRAN	23
Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 1.1. Skema Kerja Partisi	23
Lampiran 1.2. Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan Metode ABTS	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 1.3. Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 1.4. Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 2. Perhitungan	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 2.1. Perhitungan Metode ABTS	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 2.2 Perhitungan Metode DPPH	Error! Bookmark not defined.

Lampiran 2.3. Perhitungan Metode FRAP **Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tingkat kekuatan antioksidan	14
2. Hasil persen rendemen partisi ekstrak etanol daun <i>V.trifolia</i>	27
3. Hasil pembuatan larutan stok	29
4. Hasil pengujian antioksidan fraksi hasil partisi ekstrak etanol <i>V. trifolia</i> metode ABTS	30
5. Hasil pengujian antioksidan fraksi hasil partisi ekstrak etanol <i>V. trifolia</i> metode DPPH	31
6. Hasil pengujian antioksidan fraksi hasil partisi ekstrak etanol <i>V. trifolia</i> metode FRAP	32
7. Perbandingan aktivitas antioksidan fraksi hasil partisi ekstrak etanol daun <i>V. trifolia</i> dengan metode ABTS, DPPH, dan FRAP	34
8. Pengujian Antioksidan Metode ABTS	43

9. Pengujian antioksidan metode DPPH	53
10. Pengujian antioksidan metode FRAP	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan <i>Vitex trifolia</i>	5
2. Reaksi oksidasi ABTS oleh kalium persulfat menghasilkan ABTS ^{•+} kation radikal dan reaksinya dengan senyawa Antiradical	13
3. Reaksi penghambatan radikal bebas DPPH	13
4. Reaksi reduksi Fe ₃₊ menjadi Fe ₂₊	14
5. Diagram Spektrofotometri UV/Vis	15
6. Hasil klt fraksi hasil partisi ekstrak etanol daun <i>V. trifolia</i>	28
7. Grafik Heksan 1 Metode ABTS	47
8. Grafik Heksan 2 Metode ABTS	47
9. Grafik Heksan 3 Metode ABTS	48
10. Grafik Kloroform 1 Metode ABTS	48
11. Grafik Kloroform 2 Metode ABTS	49
12. Grafik Kloroform 3 Metode ABTS	49
13. Grafik Butanol 1 Metode ABTS	50

14. Grafik Butanol 2 Metode ABTS	50
15. Grafik Butanol 3 Metode ABTS	51
16. Grafik Air 1 Metode ABTS	51
17. Grafik Air 2 Metode ABTS	52
18. Grafik Air 3 Metode ABTS	52
19. Grafik Heksan 1 Metode DPPH	57
20. Grafik Heksan 2 Metode DPPH	57
21. Grafik Heksan 3 Metode DPPH	58
22. Grafik Kloroform 1 Metode DPPH	58
23. Grafik Kloroform 2 Metode DPPH	59
24. Grafik Kloroform 3 Metode DPPH	59
25. Grafik Butanol 1 Metode DPPH	60
26. Grafik Butanol 2 Metode DPPH	60
27. Grafik Butanol 3 Metode DPPH	61
28. Grafik Air 1 Metode DPPH	61
29. Grafik Air 2 Metode DPPH	62
30. Grafik Air 3 Metode DPPH	62
31. Grafik Heksan 1 Metode FRAP	66
32. Grafik Heksan 2 Metode FRAP	66
33. Grafik Heksan 3 Metode FRAP	67
34. Grafik Kloroform 1 Metode FRAP	67
35. Grafik Kloroform 2 Metode FRAP	68
36. Grafik Kloroform 3 Metode FRAP	68

37. Grafik Butanol 1 Metode FRAP	69
38. Grafik Butanol 2 Metode FRAP	69
39. Grafik Butanol 3 Metode FRAP	70
40. Grafik Air 1 Metode FRAP	70
41. Grafik Air 2 Metode FRAP	71
42. Grafik Air 3 Metode FRAP	71
43. Proses partisi ekstrak etanol daun <i>V. trifolia</i>	72
44. Hasil KLT hasil partisi ekstrak etanol daun <i>V. trifolia</i>	72
45. Hasil pengujian antioksidan metode ABTS	72
46. Hasil pengujian antioksidan metode DPPH	72
47. Proses pembuatan larutan FRAP	73
48. Hasil pengujian antioksidan metode FRAP	73

DAFTAR SINGKATAN

μm	= <i>micrometer</i>
nm	= nanometer
UV	= Ultra Violet
Vis	= Visibel
ppm	= <i>Parts per million</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja Penelitian	39
2. Perhitungan	43
3. Dokumentasi Penelitian	72

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Dalam dunia medis seringkali dibahas tentang radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa yang tidak stabil karena memiliki satu elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya, sehingga radikal bebas akan merebut elektron yang ada di sekitarnya dan menyebabkan reaksi berantai yang dapat mengakibatkan kerusakan di dalam tubuh (Sayuti & Yenrina, 2015).

Tubuh manusia dapat menetralkan kerusakan oleh radikal bebas dengan mekanisme pertahanan antioksidan. Antioksidan dibagi menjadi dua yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen ialah antioksidan yang disintesis dalam tubuh, contohnya superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathion peroksidase (GPx). Antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang berasal dari luar tubuh, baik dari produk kosmetik, obat, makanan maupun minuman. (Wijaya Hendra & Lukman junaidi, 2011).

Berdasarkan sumbernya antioksidan eksogen dibagi menjadi dua yaitu alami dan sintetik. Antioksidan sintetik diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia, sedangkan antioksidan alami diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga dan biji. Antioksidan sintetik sudah banyak digunakan dalam produk pangan baik pada minuman maupun makanan kemasan yang mana belum dapat

dianggap aman bagi kesehatan. Terdapat beberapa contoh dari antioksidan sintetik yaitu butil hidroksil anisol (BHA), butil hidroksil toluene (BHT), dan tetra butil hidroksil quinon (TBHQ). Sedangkan antioksidan alami biasanya senyawa antioksidan yang diperoleh dari bahan-bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan. Beberapa antioksidan sintesis yang biasa digunakan oleh industri pangan, seperti BHA dan BHT, akhir-akhir ini diduga bersifat karsinogenik (penyebab kanker). Sementara itu, dilain pihak pilihan dan ketersediaan terhadap antioksidan alami masih terbatas (Sayuti & Yenrina, 2015).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah legundi (*Vitex trifolia* L). *V. trifolia* adalah tumbuhan yang tergolong pada famili verbemaceae berupa tumbuhan perdu atau pohon kecil yang berpotensi sebagai salah satu sumber fitofarmaka Indonesia (Sonal, S. et, all. 2013). Berdasarkan penggunaan empirisnya daun *V. trifolia* berguna untuk mengurangi rasa nyeri, reumatik, asma, obat luka, peluruh air seni, dan penurun panas (Wee, Hai-Ning et al., 2020).

Kajian kandungan fitokimia dari *V. trifolia* dilaporkan mengandung senyawa kimia berupa vitexin, isovitexin, luteolin-7-O- β -glucuronopiranosid, quercitrin dan metil caffeiate (Kousy S. et al., 2012). Berdasarkan penelitian Alam dkk (2002) Viteksikarpin; casticin (3',5-dihidroksi-3,4',6,7-tetramethoxyflavone) yang diisolasi dari *V. trifolia* merupakan senyawa utama dari tanaman ini. Selain itu penelitian antioksidan ekstrak daun *V. trifolia* telah dilakukan oleh Saklani S. et al.,

(2017) yang berhasil mengungkapkan bahwa ekstrak daun *V. trifolia* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Dalam penelitian yang ada sebagian besar hanya mengungkapkan potensi *V. trifolia* sebagai antiradikal. Tapi kandungan senyawa dalam daun *V. trifolia* yang bertindak sebagai antiradikal masih sangat minim yang diteliti. Salah satu cara untuk memisahkan senyawa senyawa dalam ekstrak adalah partisi. Partisi merupakan metode pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Gu, 2000).

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti metode ABTS, DPPH, dan FRAP. Metode ABTS merupakan metode yang menggunakan 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonate) sebagai radikal bebas (Shalaby, 2013). Metode DPPH merupakan salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan. Prinsip uji metode ini adalah adanya donasi atom hidrogen dari substansi yang diujikan kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenilpikrilhidrazin yang akan ditunjukkan oleh perubahan warna (Molyneux, 2004). Metode lain yang dapat digunakan untuk mengukur antioksidan adalah metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Pengukuran antioksidan dengan metode FRAP lebih cepat dan sederhana, akan tetapi metode ini tidak dapat mendeteksi kelompok SH yang mengandung gugus thiol seperti glutation (Essiet, 2013).

Tujuan penelitian ini untuk membandingkan aktivitas antioksidan berbagai fraksi hasil partisi bertingkat ekstrak daun *V. trifolia* menggunakan metode ABTS, DPPH, dan FRAP. Partisi bertingkat akan mempengaruhi profil kandungan kimia pada masing-masing fraksi. Perbedaan fraksi tersebut dimungkinkan berpengaruh terhadap aktifitas antiradikal. Dengan penelitian ini, diharapkan dapat diketahui fraksi yang menyumbangkan aktivitas antioksidan.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana perbandingan aktivitas antioksidan beberapa fraksi hasil partisi bertingkat ekstrak etanol daun *V. trifolia* menggunakan metode ABTS, DPPH, dan FRAP.

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antioksidan beberapa fraksi hasil partisi bertingkat ekstrak etanol daun *V. trifolia* menggunakan metode ABTS, DPPH, dan FRAP.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Umum Tumbuhan Legundi (*Vitex trifolia* L)

II.1.1 Klasifikasi *Vitex trifolia* L.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Eudicotil
Bangsa	: Solanales
Suku	: Lamiaceae
Marga	: Vitex
Jenis	: <i>Vitex trifolia</i> L. (Suchitra dan Binoy, 2018)



Gambar 1. *Vitex trifolia* (Suchitra dan Binoy, 2018)

II.1.2 Morfologi Tumbuhan

Vitex trifolia adalah semak setinggi 6 m, anak daun 3, berbulu halus di atas (kecuali untuk pelepah), di bawah bulu keabu-abuan padat. Daun median lonjong-elips sampai obovate, 2,5-9,5 cm x 1,5-4 cm, dengan 6 - 13 pasang urat lateral, pada tangkai daun sepanjang 1-6 mm, daun lateral sessile atau subsessile. Letak daun terminal dan ketiak, tersusun dalam malai; kelopak panjang 3-5 mm, berbibir 2 tidak jelas,

dengan 5 gigi kecil, mahkota biru sampai ungu atau ungu, vili tenggorokan di dalam. Buah bulat telur, panjang 5-6 mm, hitam atau kebiruan kehitaman saat matang. *Vitex negundo* sangat mirip dengan *Vitex trifolia* tetapi dapat dibedakan dari daun mediannya yang panjang dan bertangkai daun serta 3-5 helai daun (Orwa, dkk, 2009).

II.1.3 Kandungan Kimia

Tanaman tersebut mengandung senyawa polifenol, flavonoid, protein, tanin, fitosterol, dan saponin. Buah *V. trifolia* mengandung minyak atsiri, monoterpen bersama diterpenes, dihidrosolidagenone, beta-silosterol-3-ohlukosidase, terpineol, alfa-pinene 3,6,7-trimetil quercetigen. Daun dan kulit batang mengandung minyak esensial, flavon, artemetin dan artemetin 7-dimetil, friedelin, dan beberapa non-flavonoid dan alkaloid. Ekstrak etanol daun *V. trifolia* mengandung asam palmitat, etil-p-hidroksibenzoat, asam 3,4-dihidroksibenzoat, asam metoksibenzoat 4-hidroksi-3, asam caffeic, hidroksil etil sinamat, luteolin, quercetin, apigenin, viteksin, casticin, dan 3,6,7-trimetolquercetagenin (Suchitra dan Binoy, 2018). Viteksikarpin; casticin (3',5-dihidroksi-3,4',6,7-tetrametoksiflavone), merupakan senyawa polimetoksiiflavon yang di isolasi dari *V. trifolia* sebagai salah satu metabolit senyawa utama dari tanaman ini (Alam, dkk, 2002).

II.1.4 Kegunaan

II.1.4.1 Penggunaan Empiris

Penggunaan empiris dari *V. trifolia* diantaranya adalah sebagai obat influenza, demam, sakit kepala, sakit gigi, sakit perut, diare, mata merah rematik, beri beri, batuk, luka terpukul, luka berdarah, muntah darah, eksim, haid tidak teratur, prolapsus uteri, dan pembunuh serangga. Akar *V. trifolia* memiliki efek mencegah kehamilan dan perawatan setelah bersalin. Bijinya untuk obat pereda, penyegar badan, dan perawatan rambut. Buah *V. trifolia* digunakan untuk obat cacing dan peluruh haid. Sementara daunnya untuk analgesic, antipiretik, obat luka, peluruh kencing, peluruh kentut, pereda kejang, menormalisasikan siklus haid, dan germicide (Hariana, 2008).

II.1.4.2 Antinosiseptif/antiinflamasi

Ekstrak daun *V. trifolia* dieksplorasi memberikan efek antinosiseptif dan mengurangi rasa sakit. Ekstrak daun *V. trifolia* dengan dosis 400 mg yang diberikan kepada tikus memberikan hasil yang signifikan bahwa *V. trifolia* dapat berefek antinosiseptif pada sentral dan perifer (Pfuzia *et al*, 2013).

II.1.4.3 Antimikroba

Ekstrak daun *V. trifolia* dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan *E. Coli* pada konsentrasi paling rendah 12,5 ppm, *Shigella flexneri* pada konsentrasi paling rendah 25 ppm, *Proteus mirabilis* pada konsentrasi paling rendah 25 ppm, *Pseudomonas diminuta* pada

konsentrasi paling rendah 25 ppm, dan *S. aureus* ATCC 6538 pada konsentrasi paling rendah 12,5 ppm (Nather, S. *et al*, 2012).

II.1.4.4 Antikanker

Sejumlah laporan farmakologi menunjukkan bahwa senyawa viteksikarpin yang diisolasi dari *V. trifolia* mampu menginduksi penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat (PC-3) dengan IC₅₀ 28,8 µM, karsinoma hepatoseluler dan leukemia (Meng, *et al.* 2012).

II.1.4.2 Antioksidan

Ekstrak daun *V. trifolia* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Pada pengujian antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ 81,72 ppm, metode β Caroten menunjukkan nilai IC₅₀ 226,7 ppm, metode radikal oksida nitrat menunjukkan nilai IC₅₀ 92,78, dan metode EDTA menunjukkan nilai IC₅₀ 40 ppm (Saklani *et al.*, 2017).

II.2 Partisi

Partisi adalah proses pemisahan zat terlarut dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, dengan kata lain perbandingan konsentrasi zat terlarut dalam pelarut organik, dan pelarut air (Gunawan,2005).

Berdasarkan bentuk campuran yang dipartisi, suatu partisi dapat dibedakan menjadi partisi cair cair, dan partisi padat cair (Yazid, 2005) :

1. Partisi Cair-Cair (Ekstraksi Cair-Cair)

Metode partisi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Komponen kimia

akan terpisah ke dalam kedua fase sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Gu, 2000).

2. Partisi Cair-Padat (Ekstraksi Cair-Padat)

Metode partisi cair-padat merupakan pemisahan dalam campuran yang berbentuk padatan. Ekstraksi seperti ini sering dilakukan dalam usaha mengisolasi senyawa bahan alam seperti, hormone, antibiotika, dan lipida pada biji bijian (Yazid, 2005).

II.3 Radikal Bebas

II.3.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Untuk memperoleh pasangan elektron, radikal bebas mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada disekitarnya. Radikal bebas sangat reaktif, sehingga dapat bereaksi dengan molekul lain seperti karbohidrat, protein, lemak dan DNA. Untuk memperoleh stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama, sehingga harus menyerang molekul stabil terdekat dan mengambil elektron. Zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas, sehingga akan memulai reaksi berantai yang akhirnya menyebabkan kerusakan sel (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas dalam jumlah berlebih di dalam tubuh sangat berbahaya karena dapat mengganggu aktivitas sel normal, menghasilkan

rantai reaksi perusakan. Kerusakan membran sel pada pembuluh darah dapat menyebabkan pengerasan dan tumpukan pada arteri dan dapat menyebabkan serangan jantung dan stroke (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas yang terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut reactive oxygen species (ROS) dan reactive nitrogen species (RNS) seperti nitrit oksida ($\text{NO}\cdot$) dan nitrogen dioksida (NO_2) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik dan radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H(H \cdot) misalnya radikal DPPH (Alisi dan Onyeze, 2008).

II.3.2 Sumber Radikal Bebas

Menurut Yuslianti (2018), sumber radikal bebas terdiri atas dua yaitu, radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh (endogen), dan radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (Eksogen).

1. Radikal Bebas Endogen

Radikal bebas endogen dapat diperoleh dari hasil autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi, atau melalui iskemik. Autoksidasi adalah senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzilik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Contohnya lemak yang memproduksi asam butanoat, berbau tengik setelah bereaksi dengan udara

Oksidasi Enzimatis menghasilkan oksidasi asam hipoklorit. Sekitar 70-90% konsumsi O_2 oleh sel fagosit diubah menjadi superoksida dan

bersama dengan OH serta HOCl Membentuk H₂O₂ dengan bantuan bakteri. Oksigen dalam sistem transpor elektron menerima 1 elektron membentuk supeksidasi. Fagositosis dalam respirasi, proses fagositosis mikroorganisme oleh sel leukosit menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar, hampir 70-90% penggunaan oksigen dapat memproduksi superoksidasi.

2. Radikal Bebas Eksogen

Sumber radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh, diantaranya sinar ultraviolet (UV), radiasi, asap rokok, senyawa kimia karbontetraklorida, senyawa hasil pemanggangan dan zat pewarna.

Sinar Ultraviolet B merangsang melanosit memproduksi melanin berlebihan dalam kulit, yang tidak hanya membuat kulit gelap, melainkan juga berbintik hitam. Sinar UV A merusak kulit dengan menembus lapisan basal yang menimbulkan kerutan. Radiasi elektromagnetik sinar X, sinar gamma, dan radiasi partikel elektron, proton, neutron, alfa, dan beta menghasilkan radikal primer dengan cara memindahkan energinya pada komponen seluler, radikal primer dapat mengalami reaksi sekunder bersama oksigen yang terurai atau bersama cairan seluler yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan.

II.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Antioksidan mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron

kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat dan radikal bebas pun tidak terbentuk (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Menurut Meydani, dkk. (1995), keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan fungsi sistem imunitas tubuh. Senyawa asam lemak tak jenuh merupakan komponen terbesar yang menyusun membran sel, yang diketahui sangat sensitif terhadap perubahan keseimbangan oksidan-antioksidan. Sehingga, sel imun memerlukan antioksidan dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan sel lain. Defisiensi antioksidan yang berupa vitamin C, vitamin E, Se, Zn, dan glutathion sangat berpengaruh terhadap sistem imun.

Secara alami sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, telah ada di dalam tubuh. Ada dua macam antioksidan, antioksidan internal dan eksternal. Antioksidan internal adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sendiri, sementara antioksidan eksternal adalah antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh. Secara alami tubuh mampu menghasilkan antioksidan sendiri, akan tetapi kemampuan ini ada batasnya. Kemampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan alami akan semakin berkurang, dengan bertambahnya usia (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Menurut Sayuti dan Yenrinna (2015), berdasarkan fungsi dan mekanismenya antioksidan digolongkan menjadi :

1. Antioksidan Primer

Antioksidan primer adalah antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul stabil. Mekanisme kerja antioksidan primer adalah memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal juga dengan istilah *chain breaking antioxidant*. Beberapa contoh antioksidan primer seperti butil hidroksi toluen (BHT), tersier butil hidroksi quinon (TBHQ), propil galat dan tokoferol alami maupun sintetik.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder adalah suatu senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi seperti logam-logam seperti : Fe, Cu, Pb dan Mn. Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Salah satu contoh antioksidan sekunder adalah Vitamin E.

3. Antioksidan Tersier

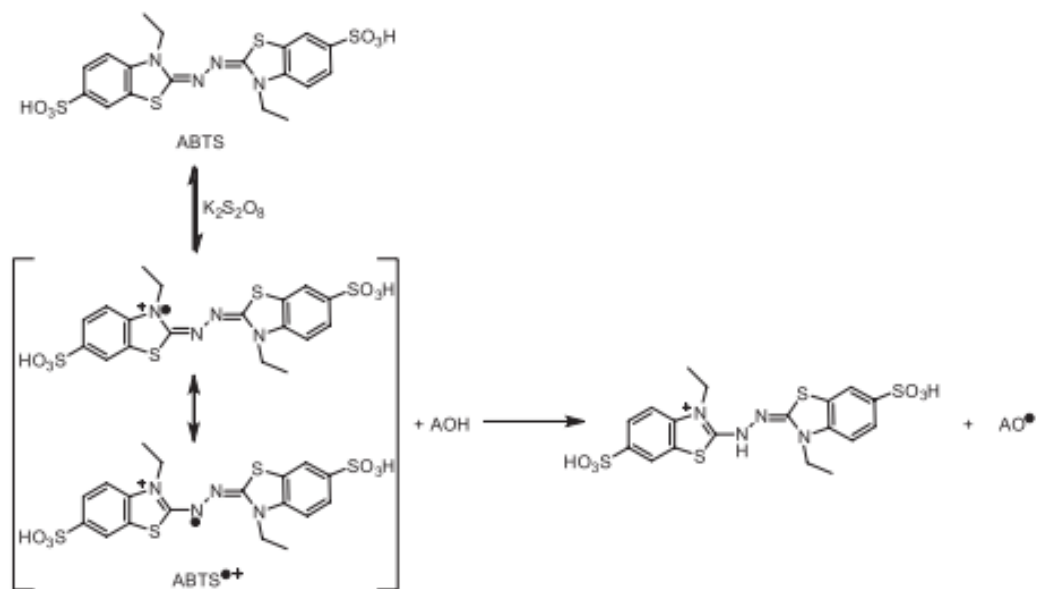
Antioksidan tersier adalah antioksidan yang berfungsi memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas, yang termasuk kelompok antioksidan tersier adalah jenis enzim

seperti metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel.

II.5 Metode Analisis Antioksidan

II.5.1 Metode ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat))

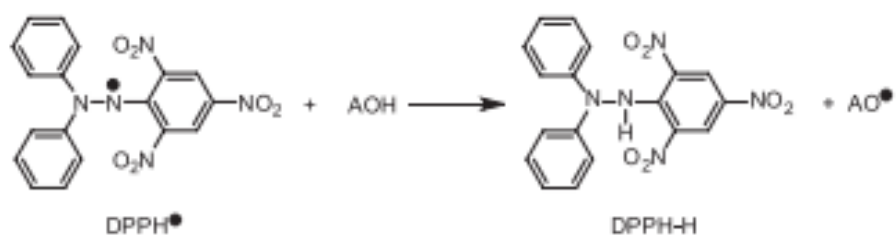
Metode ABTS menggunakan 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat) sebagai sumber radikal bebas. Radikal bebas ABTS diperoleh dengan cara oksidasi kalium persulfate ($K_2S_2O_8$) sehingga diperoleh radikal bebas dengan inti nitrogen dan karakteristik warna biru hijau sebelum direaksikan dengan antioksidan. Ketika tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk non radikal yang tidak berwarna (Erel, 2004).



Gambar 2. Reaksi oksidasi ABTS oleh kalium persulfat menghasilkan ABTS•+ kation radikal dan reaksinya dengan senyawa antiradikal (Oliveiraa, 2014).

II.5.2 Metode DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil)

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



Gambar 3. Reaksi penghambatan radikal DPPH (Oliveiraa, 2014).