

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI RAMBUT
JAGUNG (*Zea mays* L.) DENGAN METODE
β-CAROTENE BLEACHING**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF CORN SILK (*Zea
mays* L.) FRACTION USING *β*-CAROTENE
BLEACHING METHOD**

Disusun dan diajukan oleh

**ST. YUNIS ZAHRA
N011 18 1337**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI RAMBUT JAGUNG (*Zea mays* L.)
DENGAN METODE β -CAROTENE BLEACHING**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF CORN SILK (*Zea mays* L.) FRACTION
USING β -CAROTENE BLEACHING METHOD**

SKRIPSI

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

ST. YUNIS ZAHRA

N011 18 1337

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

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI RAMBUT JAGUNG (*Zea mays* L.)
DENGAN METODE β -CAROTENE BLEACHING

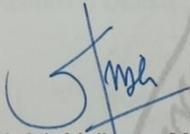
ST. YUNIS ZAHRA

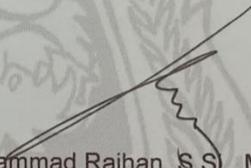
N011 18 1337

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt.
NIP. 19780716 200312 2 001


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001

Pada Tanggal, 1 Desember 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI RAMBUT JAGUNG (*Zea mays* L.)
DENGAN METODE β -CAROTENE BLEACHING

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF CORN SILK (*Zea mays* L.) FRACTION
USING β -CAROTENE BLEACHING METHOD

Disusun dan diajukan oleh :

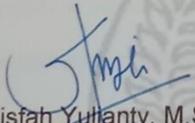
ST. YUNIS ZAHRA
N011 18 1337

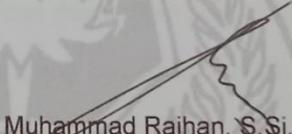
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada Tanggal 1 Desember 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

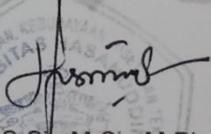
Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt.
NIP. 19780716 200312 2 001


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


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

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : St. Yunis Zahra

NIM : N011 18 1337

Program Studi : S1 Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya ilmiah saya berjudul

Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Rambut Jagung (*Zea mays* L.) dengan
Metode β -Carotene Bleaching

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 1 Desember 2022

Yang menyatakan,


St. Yunis Zahra

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakhatuh. Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah *subhanahu wa ta'ala* yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga peneliti dapat menyelesaikan skripsi dengan judul " Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Rambut Jagung (*Zea mays* L.) Dengan Metode β -Carotene Bleaching". Shalawat dan salam kepada *role model* terbaik sepanjang sejarah, Rashulullah *shallallahu 'alaihi wa sallam*, kepada keluarga beliau, para sahabat, *tabi'in* dan *at-baut tabi'in*.

Skripsi ini penulis persembahkan kepada kedua orang tua ayahanda Naim Dolang dan Ibunda Rahmawati K. yang tiada henti memberikan motivasi, kasih sayang, dorongan dan nasihat serta doa tulus ikhlas yang tentu takkan bisa penulis balas. Selain itu juga untuk adik-adik saya yang cantik dan ganteng-ganteng.

Berkat bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini walaupun melewati berbagai macam hambatan. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Risfah Yulianti, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu,

saran, arahan dan bimbingannya selama penyusunan dan penulisan skripsi.

2. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat selama masa perkuliahan hingga menyelesaikan penelitian ini.
3. Laboran Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Laboran Laboratorium Kimia Farmasi dan laboran Laboratorium Biofarmaka Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan saran dan bantuan kepada penulis selama penelitian hingga selesai.
4. Seluruh akhwat LD Salsabil FF-UH, teman-teman *Pharmaceutical Chemistry*, Korps. Asisten Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala doa, motivasi, ilmu dan masukan yang diberikan kepada penulis.
5. Teman-teman 'Rambut Jagung *Squad*' yang telah berjuang bersama dan membantu selama proses penelitian.
6. Teman-teman Angkatan 2018 "GEMF18ROZIL" yang telah menemani penulis melewati suka duka selama berkuliah di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
7. Semua pihak yang berperan penting dalam membantu penulis yang tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Akhirnya, semua ini tiada artinya tanpa dukungan dan doa dari kedua orang tua tercinta, mama Rahmawati K. dan papa Naim Dolang, SE. Kepada

saudara-saudara penulis Mughis Miftah, Firyal Akifah dan Daffa Fitrah yang terus memberikan semangat kepada penulis. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi. Aamiin

Makassar, _____2022

St. Yunis Zahra

ABSTRAK

ST. YUNIS ZAHRA. *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Rambut Jagung (Zea mays L.) dengan Metode β -Carotene Bleaching* (dibimbing oleh Risfah Yulianty dan Muhammad Raihan)

Fraksi rambut jagung telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dengan mekanisme *radical scavenger* dan *reducing power*. Mekanisme kerja antioksidan juga dapat melalui *peroxidase lipid inhibition* yang dapat diukur dengan metode *β -carotene bleaching*. Penelitian ini dilakukan untuk mengukur aktivitas antioksidan fraksi rambut jagung dengan metode *β -carotene bleaching*. Rambut jagung diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70% dan dilanjutkan ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut air dan etil asetat. Proses fraksinasi ekstrak larut etil asetat dilakukan menggunakan eluen kloroform dan metanol dengan perbandingan 1:0; 7:3; 1:1; 3:7 dan 0:1. Dari proses fraksinasi diperoleh 4 fraksi yaitu fraksi 1 (7:3), fraksi 2 (1:1), fraksi 3 (3:7) dan fraksi 4 (0:1). Masing-masing fraksi dibuat dalam konsentrasi 100, 200, dan 400 (ppm). Pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-0 dan menit ke-120 setelah inkubasi pada suhu 50 °C menggunakan alat *Microplate Reader*. Fraksi 2 konsentrasi 400 ppm menunjukkan penghambatan *β -carotene bleaching* sebesar 73,82%. Dengan demikian fraksi 2 dapat digunakan sebagai antioksidan.

Kata Kunci: rambut jagung, *β -Carotene Bleaching*, aktivitas antioksidan

ABSTRACT

ST. YUNIS ZAHRA. *Antioxidant Activity Test of Corn Silk (Zea mays L.) Fraction Using β -Carotene Bleaching Method* (supervised by Risfah Yulianty and Muhammad Raihan)

Corn silk fractions was reported to possess antioxidant activity with radical scavenging and reducing power mechanisms. Other mechanism of antioxidant is peroxidase lipid inhibition which can be measured with β -carotene bleaching method. Main of this research want to measure antioxidant activity of corn silk fractions β -carotene bleaching method. Corn silk was extracted by maseration with ethanol 70% solvent and then partitioned with water and ethyl acetate solvents. Ethyl acetate extract was fractionated using eluent chloroform and methanol with the ratio 1:0; 7:3; 1:1; 3:7 and 0:1. There was 4 fraction by the process, fraction 1 (7:3), fraction 2 (1:1), fraction 3 (3:7) and fraction 4 (0:1). Each fraction made in 4 concentrations was 100, 200, dan 400 (ppm). Absorbance measure in 0 minute and 120 minutes after incubation at temperature 50 °C with Microplate Reader. The fraction 2 concentration 400 ppm showed β -carotene bleaching inhibited was 73,82%. Thus, fraction 2 can be used as an antioxidant

Keywords: corn silk, free radical, β -Carotene Bleaching, Antioxidant Activity

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH	iii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
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 Rambut Jagung	5
II.1.1 Taksonomi tanaman	5
II.1.2 Morfologi tanaman	5
II.1.3 Kandungan kimia dan kegunaan tanaman	6
II.2 Ekstraksi	7
II.3 Fraksinasi	9
II.4 Radikal Bebas	14
II.4.1 Pengertian radikal bebas	14
II.4.2 Faktor pembentukan radikal bebas	15
II.4.3 Kerusakan akibat radikal bebas	17

II.5 Antioksidan	18
II.5.1 Pengertian dan jenis antioksidan	18
II.5.2 Mekanisme kerja antioksidan	19
II.5.3 Metode uji aktivitas antioksidan	20
II.5.3.1 <i>DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)</i>	20
II.5.3.2 <i>ABTS (2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid)</i>	21
II.5.3.3 <i>FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)</i>	23
II.5.3.4 <i>β-carotene bleaching</i>	24
BAB III METODE KERJA	26
III.1 Alat dan Bahan	26
III.2 Metode Kerja	26
III.2.1 Penyiapan Sampel	26
III.2.2 Ekstraksi Sampel	27
III.2.3 Partisi	27
III.2.4 Fraksinasi	28
III.2.5 Pembuatan profil kromatografi	28
III.2.6 Uji aktivitas antioksidan dengan metode <i>β-carotene bleaching</i>	29
III.2.6.1 Pembuatan emulsi <i>β-carotene</i>	29
III.2.5.2 Pembuatan larutan stok sampel dan baku pembanding	29
III.2.5.3 Pengujian aktivitas antioksidan <i>β-carotene bleaching</i>	29
III.2.6 Analisis Data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
IV.1 Penyiapan Fraksi Rambut Jagung	31

IV.2. Aktivitas Antioksidan Fraksi Rambut Jagung	34
BAB V PENUTUP	37
V.1 Kesimpulan	37
V.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. ROS dari enzim peroksisom	15
2. Rendemen hasil fraksinasi rambut jagung	49
3. Nilai IC ₅₀ ekstrak & fraksi rambut jagung	35
4. Hasil perhitungan persentase penghambatan ekstrak	44
5. Hasil perhitungan persentase penghambatan fraksi A	46
6. Hasil perhitungan persentase penghambatan fraksi B	47
7. Hasil perhitungan persentase penghambatan fraksi C	49
8. Hasil perhitungan persentase penghambatan fraksi D	50
9. Hasil perhitungan persentase penghambatan BHT	52

DAFTAR GAMBAR

Lampiran	halaman
1. Jagung (<i>Zea mays</i> L.)	5
2. Reaksi pada metode <i>DPPH</i> dan perubahan wamanya	21
3. Reaksi pada metode <i>ABTS</i> dan perubahan wamanya	22
4. Reaksi pada metode <i>FRAP</i> dan perubahan warnanya	24
5. Reaksi pembentukan radikal β - <i>carotene</i>	25
6. Profil KLT fraksi-fraksi di bawah sinar UV 254 nm	33
7. Diagram penghambatan ekstrak & fraksi rambut jagung terhadap β - <i>carotene bleaching</i> pada beberapa konsentrasi	34
8. Diagram penghambatan BHT terhadap β - <i>carotene bleaching</i> pada beberapa konsentrasi	35
9. Diagram nilai probit persentase penghambatan per konsentrasi ekstrak	45
10. Diagram nilai probit persentase penghambatan per konsentrasi fraksi A	46
11. Diagram nilai probit persentase penghambatan per konsentrasi fraksi B	48
12. Diagram nilai probit persentase penghambatan per konsentrasi fraksi C	49
13. Diagram nilai probit persentase penghambatan per konsentrasi fraksi D	51
14. Diagram nilai probit persentase penghambatan per konsentrasi BHT	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja fraksinasi & uji aktivitas antioksidan rambut jagung	42
2. Perhitungan rendemen dan IC ₅₀	43

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Reactive Oxygen Species (ROS) diproduksi secara normal sebagai hasil samping dari reaksi metabolisme di dalam tubuh (Zuo, *et al.* (2015). Agen antioksidan berupa enzim *superoxide dismutase*, *catalase* dan jenis *peroxidase* juga secara normal diproduksi di dalam tubuh (Lobo, *et al.*, 2010). Namun, ada beberapa faktor yang dapat memicu peningkatan produksi radikal bebas di dalam tubuh, di antaranya polusi udara, sinar matahari, makanan berlemak, konsumsi alkohol, suhu yang tinggi dan bahkan obat-obatan seperti parasetamol dan doxorubicin (Phaniendra, *et al.*, 2015). Jumlah radikal bebas yang berlebih tidak mampu ditangani oleh antioksidan alami tubuh, sehingga menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang dapat memicu berbagai penyakit seperti, penyakit jantung, diabetes melitus, kanker, berbagai penyakit neurodegeneratif dan inflamasi, penuaan dini dan masih banyak lagi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas (D'Oria, *et al.* 2020; Ullah, *et al.* 2015; Phaniendra, *et al.* 2015).

Antioksidan eksogen dibutuhkan untuk dapat mencegah dan mengurangi risiko terhadap berbagai penyakit di atas. Antioksidan dapat berasal dari hasil sintetik maupun alami. Menurut Lourenço *et al.* (2019), antioksidan sintetik memiliki kestabilan dan juga kinerja yang lebih tinggi

dibandingkan antioksidan alami. Kornienko, *et al.* (2019) mengungkapkan bahwa konsumsi antioksidan sintetis dosis tinggi dapat mengakibatkan kerusakan DNA dan menyebabkan penuaan dini. Selain itu, penggunaan jangka panjang antioksidan sintetis dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan seperti masalah pencernaan, alergi pada kulit dan meningkatkan risiko kanker (Lourenço *et al.* 2019). Sehingga saat ini semakin banyak penelitian terhadap sumber antioksidan alami.

Salah satu sumber antioksidan alami yang sangat mudah ditemukan di Indonesia adalah rambut jagung (*Stigma maydis*) (Suputri, dkk. 2021; Saputra & Lailia 2020). Rambut jagung telah digunakan dalam pengobatan herbal di Turki dan Vietnam sejak tahun 90-an (Yesilada, *et al.*, 1995; Dat, *et al.*, 1992). Limmatvapirat, *et al.* (2020) menyatakan bahwa ekstrak etanol rambut jagung mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu, flavonoid, tanin, steroid dan terpenoid. Rambut jagung memiliki beberapa aktivitas farmakologi, di antaranya sebagai diuresis dan kaliuresis, aktivitas antioksidan, antidepresan, antilelah, antihiperlipidemik, antiinflamasi, mereduksi hiperglikemia dan neuroprotektif (Rieuwpassa, *et al.* 2020; Hasanuddin, *et al.* 2012).

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol rambut jagung muda Thailand yang diuji dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dan *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) masing-masing menghasilkan nilai EC₅₀ sebesar 117.08 ± 0.38 dan 58.16 ± 1.01 (Limmatvapirat, *et al.* 2020). Pada artikel yang

lain disebutkan bahwa aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat rambut jagung yang diuji dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)* dan radikal hidroksil menunjukkan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat yang lebih besar dibandingkan fraksi n-butanol, fraksi petroleum eter, fraksi air dan ekstrak etanol rambut jagung dari China (Kai-Jin & Jin Liang, 2019). Hal yang sama juga ditunjukkan dengan metode pengujian *2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS)* terhadap fraksi etil asetat rambut jagung (Chang, *et al.*, 2016).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dengan metode *DPPH*, *ABTS* dan radikal hidroksil menunjukkan kemampuan senyawa yang terkandung dalam rambut jagung sebagai *radical scavenger* (Kai-Jin & Jin Liang, (2019); Chang, *et al.*, (2016); Limmatvapirat, *et al.* (2020); Alam, *et al.*, (2012). Sedangkan melalui pengujian dengan metode *FRAP*, diketahui bahwa rambut jagung mengandung senyawa yang bersifat sebagai antioksidan dengan mekanisme *reducing power* (Limmatvapirat, *et al.* (2020); Alam, *et al.*, (2012). Mekanisme kerja suatu antioksidan juga dapat melalui *peroxidase lipid inhibition* dengan metode *β -Carotene Bleaching* (Alam, *et al.*, 2012). Metode ini mewakili pengujian aktivitas antioksidan untuk senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar. Salah satu senyawa nonpolar yang terdapat dalam rambutjagung adalah *β -Carotene* (Ngarajan, *et.al.*, 2017; Haslina, *et al.*, 2019). Gupta dan Mahua (2013) melakukan uji aktivitas antioksidan *β -Carotene* yang diisolasi dari minyak sawit dengan beberapa metode dan memperoleh hasil bahwa metode uji yang bersifat hidrofilik mengukur aktivitas yang lebih besar

pada konsentrasi yang semakin kecil. Sedangkan metode yang bersifat lipofilik (*Beta Carotene Bleaching*) menunjukkan peningkatan aktivitas sampel uji seiring dengan peningkatan konsentrasi. Metode BCB menawarkan lingkungan lipofilik untuk melihat kemampuan suatu sampel dalam mencegah oksidasi khususnya menghambat peroksidasi lipid, dengan begitu dapat memberikan gambaran terkait aktivitas antioksidan fraksi rambut jagung di dalam tubuh yang terdiri dari lingkungan hidrofilik dan lipofilik.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan fraksi rambut jagung dengan metode *β-Carotene Bleaching* berdasarkan mekanisme *peroxidase lipid inhibition*. Pengujian ini dilakukan untuk memperkuat data ilmiah terkait potensi rambut jagung sebagai sumber antioksidan.

I.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah fraksi rambut jagung (*Stigma maydis*) memiliki aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode *β-Carotene Bleaching*?

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur aktivitas antioksidan fraksi rambut jagung (*Stigma maydis*) dengan menggunakan metode *β-Carotene Bleaching*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Rambut Jagung

II.1.1 Taksonomi tanaman

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Class	: Monocotyledoneae
Ordo	: Poales
Familia	: Poaceae
Genus	: Zea
Spesies	: <i>Zea mays</i> L. (Balitjas, 2007)



Gambar 1. Jagung (*Zea mays* L.)
(koleksi pribadi)

II.1.2 Morfologi tanaman

Sistem perakaran jagung terdiri dari akar-akar seminal, akar koronal, dan akar udara (*brace*). Pada umumnya akar-akar seminal berjumlah 3-5, tetapi dapat bervariasi dari 1-13. Batang jagung beruas-ruas yang jumlahnya bervariasi antara 10- 40 ruas, umumnya tidak bercabang kecuali ada beberapa yang bercabang beranak yang muncul dari pangkal batang, misalnya pada jagung manis. Panjang batang berkisar antara 60-300 cm

tergantung dari tipe jagung. Ruas-ruas bagian atas berbentuk agak silindris, sedangkan bagian bawah bentuknya agak bulat pipih (Balitjas, 2007).

Daun jagung muncul dari buku-buku batang, sedangkan pelepah daun menyelubungi ruas batang untuk memperkuat batang. Panjang daun jagung bervariasi antara 30-150 cm dan lebar 4-15 cm. Pada daun jagung terdapat lidah daun (ligula) yang transparan. Bagian atas epidermis umumnya berbulu dan mempunyai barisan memanjang yang terdiri dari sel-sel *bulliform* (Balitjas, 2007).

Tanaman jagung terdiri atas bunga jantan dan bungan betina. Bunga jantan atau yang dikenal dengan *tassel* terletak di bagian atas dan memproduksi pollen atau serbuk sari. Produksi serbuk sari ditandai oleh pecahnya kantong sari pada tassel, dan bila bunga betina (tongkol) sudah berambut maka penyerbukan akan berlangsung. Penyerbukan yang berhasil akan menghasilkan biji pada tongkol. Warna biji jagung bermacam-macam, di antaranya merah, ungu, kuning, dan putih. Pada satu tongkol jagung mungkin untuk terdapat beberapa warna biji, hal ini akibat terjadinya transpose gen atau jumping (pelompatan) gen. (Balitjas, 2007).

II.1.3 Kandungan kimia dan kegunaan tanaman

El-Ghorab, *et al.* 2007 menguji kandungan kimia dari ekstrak etanol rambut jagung dan menemukan bahwa terdapat sekitar 36 senyawa volatil dengan α -terpineol and citronellol sebagai senyawa dengan rendemen

terbanyak. Pada rambut jagung juga diketahui mengandung senyawa polifenol, flavonoid, steroid, tanin, terpenoid dan β -carotene (Limmatvapirat, *et al.* 2020; Haslina, dkk.). Senyawa polifneol, flavonoid dan β -carotene berperan besar terhadap aktivitas antioksidan pada suatu tanaman. Selain itu, rambut jagung juga diketahui memiliki aktivitas sebagai antidepresan, antilelah, antihiperlipidemik, antiinflamasi, mereduksi hiperglikemia dan neuroprotektif (Rieuwpassa, *et al.* 2020; Hasanuddin, *et al.* 2012).

II.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu cara penarikan senyawa kimia dari simplisia dengan cara dan pelarut yang cocok agar kandungan kimia yang dapat larut terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Sistem penyarian dan polaritas pelarut sangat menentukan perpindahan senyawa kimia tanaman dari dalam sel ke dalam cairan pelarut (Mukhriani, 2014).

Berikut beberapa metode ekstraksi :

a. Maserasi

Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi yang paling umum digunakan. Metode ini cocok digunakan untuk ekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat termobil atau tidak tahan terhadap pemanasan. Maserasi dilakukan dengan memasukkan simplisia dan larutan penyari ke dalam wadah yang inert, kemudian ditutup rapat dan disimpan pada suhu ruang. Dilakukan pengadukan beberapa kali hingga konsentrasi yang ada di dalam sel dan di luar sel seimbang (Mukhriani, 2014).

b. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan cara memasukkan pelarut dan sampel ke dalam labu alas bulat pada temperatur titik didihnya. Pelarut akan menguap dan akan mengalami kondensasi sehingga kembali ke dalam labu alas bulat. Metode ini kurang tepat digunakan untuk ekstraksi senyawa yang termobil (Mukhriani, 2014).

c. Soxhletasi

Ekstraksi menggunakan soxhletasi dilakukan dengan menempatkan sampel dalam sarung selulosa atau dapat juga kertas saring dalam klonsong yang berada di antara labu alas bulat dan kondensor. Dalam labu alas bulat dimasukkan pelarut yang sesuai. Pada metode ini sampel akan diekstraksi secara kontinu dengan pelarut hasil kondensasi sehingga tidak dibutuhkan banyak pelarut dan waktu. Kelemahan dari metode ini adalah tidak cocok digunakan untuk ekstraksi senyawa yang termolabil (Mukhriani, 2014).

d. *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)*

Pada metode ini melibatkan penggunaan *ultrasound* 20 kHz – 2000 kHz, sehingga meningkatkan kontak permukaan sampel dan pelarut, juga permeabilitas dinding sel. Metode ini memungkinkan penggunaan sampel yang sedikit maupun banyak, biaya yang relatif rendah dan prosedur yang sederhana. Selain itu, dengan metode UAE juga dapat mengurangi waktu ekstraksi dan penggunaan pelarut. Akan tetapi,

penggunaan *ultrasound* dapat berpengaruh terhadap fitokimia bahan melalui pembentukan radikal bebas (Azwanida, 2015).

e. *Microwave assisted extraction (MAE)*

Metode ekstraksi ini melibatkan energi gelombang mikro yang memfasilitasi partisi analit dari matriks sampel ke dalam pelarut. Teknik ini mengurangi ekstraksi waktu dan volume pelarut dibandingkan dengan metode konvensional (Maserasi & Soxhlet). Namun, metode ini terbatas pada senyawa fenolik molekul kecil seperti asam fenolat (asam galat dan asam elagik), kuasertin, isoflavin dan trans-resveratrol karena molekul-molekul ini stabil di bawah gelombang mikro kondisi pemanasan hingga 100° C selama 20 menit (Azwanida, 2015).

II.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan ekstrak menjadi fraksi-fraksi. Tiap bagian fraksi terdiri dari sejumlah senyawa yang memiliki sifat polaritas yang hampir sama. Dalam proses fraksinasi digunakan pelarut dengan polaritas yang berbeda dan penambahannya disesuaikan dengan urutan peningkatan polaritas. Teknik fraksinasi dapat dibedakan menjadi dua, yaitu teknik kimiawi dan fisika. Teknik kimia didasarkan pada jenis gugus fungsi dari senyawa yang terkandung di dalam campuran dan pemisahannya dapat dilakukan dengan reaksi kimia menggunakan reagen tertentu. Adapun teknik fisika mencakup beberapa metode di antaranya metode corong pisah, teknik

kromatografi, distilasi fraksional, kristalisasi fraksional, pembebasan fraksional, dan sublimasi (Abubakar & Haque, 2020).

a. Distilasi Fraksional

Metode ini biasanya digunakan dalam pemisahan hidrokarbon seperti minyak mentah, citral, dan eucaliptol. Proses pemisahan didasarkan pada perbedaan titik didih tiap senyawa. Peralatan distilasi fraksional dirangkai agar ketika campuran dipanaskan setiap senyawa akan menguap dan terpisah berdasarkan titik didihnya. Akibatnya, setiap senyawa yang difraksinasi akan mengembun dan dikumpulkan sebagai entitas yang terpisah melalui beberapa sifon yang dipasang pada peralatan distilasi fraksional (Abubakar & Haque, 2020).

b. Kristalisasi Fraksional

Sebagian besar senyawa dalam ekstrak tumbuhan secara alami adalah kristal di alam. Pemisahan dicapai melalui pembentukan kristal dengan menggunakan pemanasan atau pendinginan (Abubakar & Haque, 2020).

c. Pembebasan Fraksional

Metode ini tepat digunakan untuk memisahkan senyawa yang dapat dengan mudah membentuk endapan dari campurannya. Endapan biasanya terbentuk dengan mengubah senyawa menjadi bentuk garamnya. Pembebasan fraksional umumnya digunakan dalam pemurnian alkaloid kayu manis (Abubakar & Haque, 2020).

d. Sublimasi

Metode ini melibatkan perubahan dari padat ke gas tanpa melewati keadaan cair. Zat seperti kamper dan minyak atsiri ketika dipanaskan akan terpisah dan diubah langsung menjadi gas (Abubakar & Haque, 2020).

e. Metode kromatografi

Metode ini merupakan metode khusus yang digunakan dalam pemisahan senyawa dari campuran berdasarkan ukuran, bentuk, dan muatannya. Konsep kromatografi melibatkan penggunaan fase gerak dan fase diam seperti gel silika dan sephadex yang dicampur dengan kalsium sulfat sebagai pengikat. Berbagai mekanisme terlibat dalam pemisahan senyawa menggunakan teknik kromatografi, yaitu adsorpsi, partisi, afinitas, pertukaran ion, atau eksklusi ukuran. Teknik kromatografi meliputi *paper chromatography (PC)*, *thin layer chromatography (TLC)*, *column chromatography (CC)*, *liquid chromatography (LC)*, *gas chromatography (GC)*, dan *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* (Abubakar & Haque, 2020).

1) *Paper Chromatography (PC)*

Teknik ini melibatkan prinsip adsorpsi. Peralatan utama yang dibutuhkan adalah gelas camber dan juga fase diam berupa kertas saring yang terbuat dari selulosa. Kertas yang telah

disiapkan digantung pada bagian atas gelas. Adapun campuran yang akan dipisahkan dan juga fase gerak yang digunakan disimpan pada bagian bawah dan dibiarkan naik bersamaan untuk dipisahkan pada fase diam. Setiap senyawa diidentifikasi dengan faktor retardasi. Metode ini menghemat biaya dan juga sederhana serta sangat sensitif meskipun kuantitas bahan rendah. Kerugiannya termasuk memakan waktu dan kerapuhan kertas, yang dapat dihancurkan oleh bahan kimia (Abubakar & Haque, 2020).

2) *Thin layer chromatography (TLC)*

Teknik ini juga menggunakan mekanisme adsorpsi untuk pemisahan senyawa dalam campuran. Pada prinsipnya setiap senyawa akan dipisahkan berdasarkan interaksinya dengan fase diam. Peralatan dasar dalam teknik ini yaitu gelas camber, lempeng sebagai media fase diam dan juga fase gerak. Seperti halnya kromatografi kertas, setiap senyawa yang terpisah diidentifikasi dengan faktor retardasi. Keuntungannya antara lain lebih sedikit memakan waktu, menghasilkan noda bening, dan stabil terhadap asam sebagai pelarut (Abubakar & Haque, 2020).

3) *Column Chromatography (CC)*

Mekanisme pemisahan dengan teknik kromatografi kolom melibatkan kromatografi adsorpsi, saringan molekuler, dan

pertukaran ion untuk mencapai hasil yang diinginkan. Kolom terdiri dari tabung kaca panjang dengan keran dan filter wol kaca di bagian bawah. Selain itu, silika gel, alumina, selulosa, atau sephadex digunakan sebagai fase diam, sedangkan fase geraknya adalah cairan pelarut. Pelarut ditambahkan ke dalam kolom yang telah dikemas dengan fase diam dan campuran yang akan dipisahkan berdasarkan peningkatan sifat polaritas dari pelarut yang akan digunakan (Abubakar & Haque, 2020).

4) *Gas Chromatography (GC)*

Pada teknik ini menggunakan teknik partisi, dimana terdapat dua pelarut yang digunakan. Satu pelarut dalam bentuk gas *inert* sebagai fase gerak dan lainnya berupa cairan yang teradsorpsi ke permukaan padatan yang *inert* sebagai fase diam. Campuran yang telah diinjeksikan ke dalam sistem setelah disuspensikan dengan metanol. Pemisahan pada teknik ini didasarkan pada kelarutan senyawa terhadap pelarut yang digunakan, baik itu terhadap fase gerak ataupun fase diam. Keuntungan dari metode ini termasuk kemampuan untuk memisahkan bahan tanaman yang terkontaminasi dengan pestisida yang mudah menguap, juga digunakan dalam pengujian kontrol kualitas (Abubakar & Haque, 2020).

5) *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

Teknik ini sangat cocok untuk partisi senyawa organik dan anorganik. Fase gerak adalah pelarut yang sesuai, sedangkan fase diam adalah partikel padat yang terikat erat. Pemisahan dimulai melalui interaksi senyawa dalam campuran dengan partikel padat fase diam. Peralatan terdiri dari reservoir pelarut, injektor sampel, pompa tekanan, tabung HPLC, dan dioda detektor (Abubakar & Haque, 2020).

II.4 Radikal Bebas

II.4.1 Pengertian radikal bebas

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu atom atau molekul yang memiliki electron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan tersebut membuat radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Reaktifitas yang sangat tinggi tersebut membuat radikal bebas dapat mengabstraksi elektron dari suatu molekul lain yang menyebabkan molekul tersebut kehilangan satu elektronnya dan kemudian menjadi radikal bebas yang baru. Proses tersebut dapat mengawali episode reaksi berantai dan berujung pada kerusakan sel hidup. Pada dasarnya radikal bebas merupakan hasil samping dari reaksi normal metabolime tubuh (Phaniendra, *et al.*, 2015).

II.4.2 Faktor pembentukan radikal bebas

Pembentukan *ROS* dapat disebabkan oleh berbagai faktor, baik dari sumber endogen maupun eksogen. Sumber endogen *ROS* termasuk organ-organ seluler seperti mitokondria, peroksisom dan retikulum endoplasma, dimana organ tersebut merupakan tempat konsumsi oksigen yang tinggi.

a. Mitokondria

ROS intraseluler sebagian besar berasal dari mitokondria. *ROS* utama yang dihasilkan adalah radikal superoksida. Radikal ini diproduksi di dua tempat utama dalam rantai transpor elektron, yaitu kompleks I (NADH dehidrogenase) dan kompleks III (ubi-kuinon sitokrom c reduktase). Pembentukan superoksida bersifat non-enzimatik dan oleh karena itu semakin tinggi laju metabolisme, semakin besar pula produksi radikal tersebut (Phaniendra, *et al.*, 2015).

b. Peroksisom

Dalam peroksisom jalur pernapasan melibatkan transfer elektron dari berbagai metabolit ke oksigen mengarah ke pembentukan H_2O_2 , tetapi tidak digabungkan dengan fosforilasi oksidatif untuk menghasilkan ATP sebaliknya energi bebas dilepaskan dalam bentuk panas. Radikal bebas lain yang dihasilkan dalam peroksisom termasuk H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} dan NO^{\bullet} . Enzim peroksisomal yang berbeda menghasilkan *ROS* yang berbeda seperti yang terdapat pada tabel berikut (Phaniendra, *et al.*, 2015) :

Tabel 1. ROS dari enzim peroksisom

ENZIM	SUBSTRAT	ROS
Asil CoA-oksidadase (enzim of b- oksidasi)	Asam lemak	H ₂ O ₂
Asam D-amino oksidase	D-prolin	H ₂ O ₂
L-a-hidroxi oksidase	Glikolat	H ₂ O ₂
Urat oksidase	Asam urat	H ₂ O ₂
D-aspartat oksidase	D-aspartat	H ₂ O ₂
Xantin oksidase	Xantin	O ₂ ^{-•} , H ₂ O ₂

c. Retikulum endoplasma

Enzim retikulum endoplasma seperti enzim sitokrom p-450 dan b5 dan diamin oksidase berkontribusi pada pembentukan ROS. Enzim tiol oksidase penting lainnya, EroP1p mengkatalisis transfer elektron dari ditiol ke molekul oksigen menghasilkan pembentukan H₂O₂ (Phaniendra, *et al.*, 2015).

Sumber endogen ROS lainnya termasuk sintesis prostaglandin, auto-oksidasi adrenalin, sel fagosit, riboflavin tereduksi, FMNH₂, FADH₂, aktivasi sel imun, peradangan, stres mental, olahraga berlebihan, infeksi, kanker, penuaan, iskemia, dll. Selain itu, faktor-faktor eksogen juga mempengaruhi pembentukan ROS dalam sistem biologis oleh berbagai sumber eksogen, di antaranya polusi udara, sinar matahari, makanan berlemak, konsumsi alkohol, suhu yang tinggi dan bahkan obat-obatan seperti parasetamol dan doxorubicin (Phaniendra, *et al.*, 2015).

Polusi udara mengandung sejumlah besar radikal bebas, baik itu dari golongan ROS, RNS, maupun golongan lainnya. Beberapa radikal bebas yang ditemukan dalam polusi udara adalah hidrogen peroksida, radikal

hidroperoksil, radikal anion superoksida, radikal hidroksil, nitrit oksida, radikal nitrat (Lelieveld, *et al.*, 2021; Lu, *et al.*, 2019).

II.4.3 Kerusakan akibat radikal bebas

Radikal bebas mengambil peran pada sebagian besar kondisi patologis tubuh. Efek stres oksidatif dari radikal bebas dapat memicu berbagai penyakit. Dampak yang ditimbulkan terhadap organ jantung, seperti disfungsi kardiomyosit dan kematian melalui apoptosis dan menyebabkan disfungsi kontraktile, gangguan remodeling jantung, fibrosis, hipertrofi, dan gagal jantung. Sistem saraf pusat juga sangat rentan terhadap reaksi oksidasi dikarenakan tingginya kadar lipid, kadar penggunaan oksigen yang juga tinggi tetapi kandungan enzim antioksidan yang rendah. Penyakit neurodegeneratif seperti alzheimer, parkinson dan multi sklerosis dapat disebabkan oleh radikal bebas. Selain itu, stres oksidatif juga dapat mengakibatkan berbagai penyakit kanker, hipertensi, diabetes melitus, rheumatoid arthritis. Paparan sinar UV memicu pembentukan radikal bebas di kulit yang diketahui menjadi faktor penyebab pada kerusakan kulit akut, kronis, *photoaging*, dan karsinogenesis kulit, meskipun juga dapat bermanfaat untuk pengobatan kronis penyakit inflamasi, seperti psoriasis (D'Oria, *et al.* 2020; Zarkovic, 2020; Phaniendra, *et al.*, 2015).

II.5 Antioksidan

II.5.1 Pengertian dan jenis antioksidan

Antioksidan merupakan substansi yang dapat melindungi sel dari radikal bebas, sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit-penyakit yang disebabkan oleh stress oksidatif. Antioksidan didefinisikan sebagai molekul yang stabil, oleh karena itu dapat menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan elektronnya. Secara normal di tubuh diproduksi antioksidan seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, jenis *peroxidase*, *glutathione*, ubiquinol, dan asam urat (Lourenço *et al.*, 2019).

Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan enzimatik dan nonenzimatik. Antioksidan enzimatik seperti superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. SOD adalah enzim yang sangat berperan dalam katalisis pemecahan anion superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Enzim SOD terdapat di hampir semua sel aerobik dan cairan ekstraseluler. Katalase berfungsi untuk mengkatalisis dekomposisi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Enzim ini hampir ada di setiap organisme hidup. Glutathion peroksidase adalah enzim yang mengandung empat kofaktor selenium yang mengkatalisis pemecahan hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik. Empat isoenzim yang dimiliki oleh glutathion peroksidase berfungsi mengkatalisis peroksida yang berbeda (Lobo, *et al.*, 2010; Phaniendra *et al.*, 2015).

Antioksidan nonenzimatik ada yang berasal dari endogen maupun eksogen. Asam askorbat, tokoferol, beta caroten merupakan antioksidan nonenzimatik eksogen yang berasal dari bahan alami, sedangkan *butylated hydroxyanisole (BHA)*, *butylated hydroxytoluene (BHT)*, *propyl gallate (PG)* dan *tertiary-butyl hydroquinone (TBHQ)* termasuk antioksidan nonenzimatik yang diperoleh dari proses sintesis (Lobo, *et al.*, 2010; Lourenço *et al.*, 2019).

II.5.2 Mekanisme kerja antioksidan

Terdapat beberapa mekanisme kerja dari antioksidan. Mekanisme utama dalam kerja antioksidan adalah melalui pemulungan radikal bebas (*free radical scavenging*). Suatu molekul dapat menjadi radikal bebas ketika memiliki elektron yang tidak berpasangan. Adanya antioksidan sebagai suatu molekul yang lebih stabil dan mampu mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas sehingga mengurangi kapasitasnya untuk merusak. Selain itu, terdapat pula antioksidan yang bekerja sebagai pengkhelat ion logam (*metal ion chelating*). Ion-ion logam seperti Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+ dan Cu^{2+} dapat memicu terjadinya oksidasi, oleh karena itu dengan aksi pengkhelatan dari antioksidan dapat mencegah terbentuknya radikal bebas (Lobo, *et al.*, 2010; Lü, *et al.* 2010).

Menghambat enzim penghasil radikal bebas (*inhibition of free radical generating*) juga menjadi salah satu jalur kerja antioksidan. Enzim-enzim seperti NADH oksidase, monooksigenase dan siklioksigenase mengaktivasi proses metabolisme di dalam tubuh yang salah satu hasilnya adalah radikal bebas.

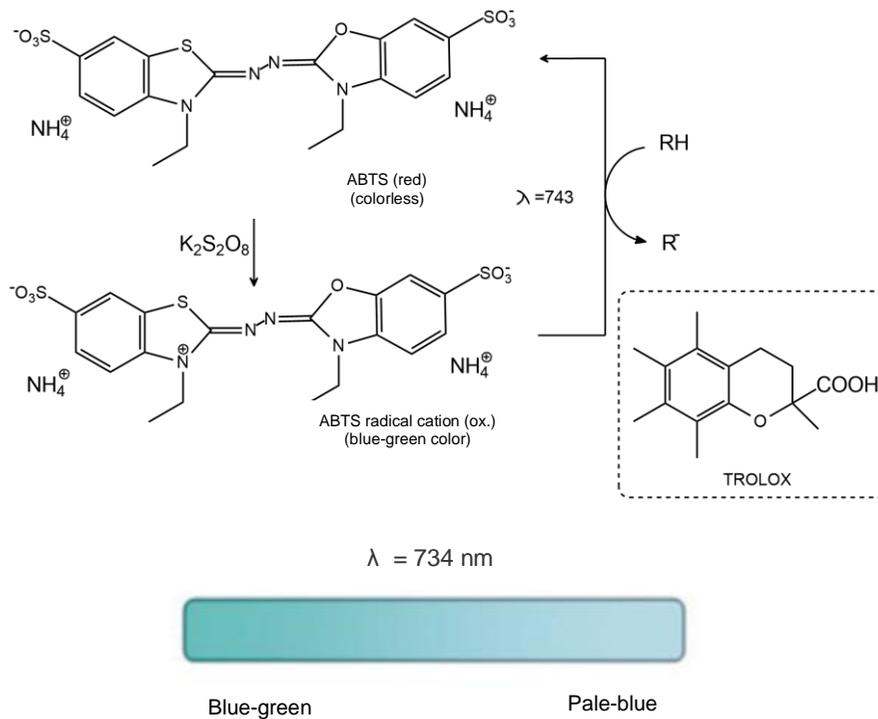
Pembentukan radikal bebas melalui jalur tersebut dapat dihambat dengan antioksidan *inhibitor of free radical generating*. Terdapat pula mekanisme pencegahan peroksidasi lipid (*prevention of lipid peroxidation*). Asam lemak tak jenuh di dalam tubuh seperti fosfolipid, kolesterol, kolesterol ester, glikolipid sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif. Keberadaan ikatan rangkap karbon-karbon dan gugus -CH₂- dengan atom hidrogen yang sangat reaktif, dapat memulai reaksi berantai radikal peroksidasi. Selain itu, terdapat pula mekanisme lainnya seperti *prevention of DNA damage* dan *prevention of protein modification* (Lü, et al. 2010).

II.5.3 Metode uji aktivitas antioksidan

II.5.3.1 DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil)

Uji netralisasi *DPPH* didasarkan pada pemberian elektron dari antioksidan untuk menetralkan radikal *DPPH*. Reaksi disertai dengan perubahan warna *DPPH* diukur pada 517 nm, dan perubahan warna bertindak sebagai indikator aktivitas antioksidan. Radikal *DPPH* tersedia dalam bentuk monomernya baik dalam wujud padatan maupun larutan. Radikal ini larut dalam pelarut organik seperti metanol dan etanol atau campuran berairnya yang memiliki kandungan air tidak lebih dari 60%. Penerapan tes ini memungkinkan pemahaman tentang berbagai fenomena kimia dan memiliki keuntungan yang jelas, seperti biaya rendah, kemudahan melakukan eksperimen, reproduktifitas, penerapan pada suhu kamar, serta kemungkinan otomatisasi. Data struktural pertama menunjukkan bahwa reaktivitas

sebagai penurunan mendadak dalam absorbansi ke 734 nm, tergantung pada durasi reaksi, aktivitas antioksidan intrinsik, dan konsentrasi sampel (Munteanu & Constantin, 2021).



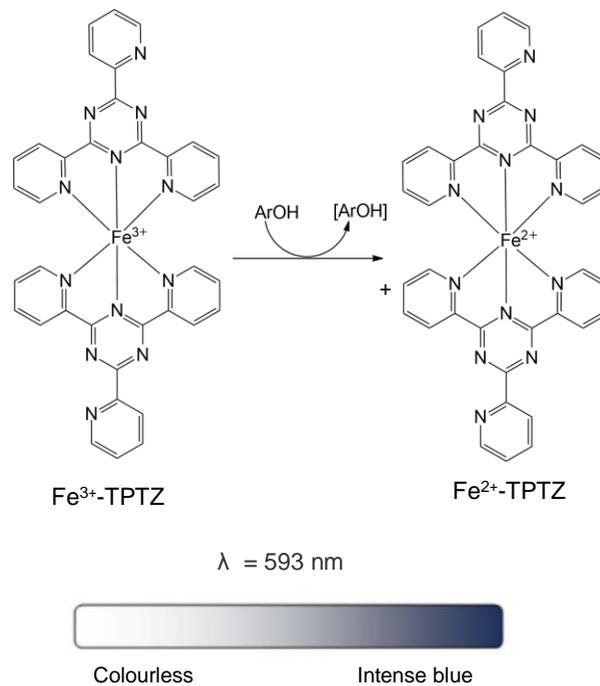
Gambar 3. Reaksi pada metode ABTS dan perubahan warnanya (Munteanu & Constantin, 2021)

Metode ini dapat digunakan secara luas pada berbagai jenis zat antioksidan karena radikal $ABTS^+$ dapat bereaksi dengan cepat terhadap antioksidan sintetik maupun alami dalam komponen makanan. Selain itu, metode ini memungkinkan pengukuran dalam range pH yang luas dan kelarutan $ABTS^+$ dalam buffer dan lingkungan organik menyebabkan pengembangan metode untuk penentuan aktivitas antioksidan hidrofilik dan lipofilik. Adapun kelemahan metode ini dalam uji kinetik, reaksi yang terlibat

tidak pasti karena zat uji dapat bereaksi dengan pengoksidasi, enzim dan kation radikal, sehingga memperoleh nilai yang terlalu tinggi (Munteanu & Constantin, 2021).

II.5.3.3 FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Mekanisme berdasarkan transfer elektron tunggal atau disebut juga *based on single electron (BSE)* merupakan salah satu metode untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu bahan. *BSE* mendeteksi kemampuan antioksidan untuk mentransfer elektron guna mengurangi ion logam, gugus karbonil dan radikal bebas. *FRAP* termasuk salah satu dari beberapa metode pengujian aktivitas antioksidan yang menerapkan mekanisme *BSE*. Pada metode ini akan mengukur reduksi kompleks ion besi (Fe^{3+})-ligan menjadi kompleks besi yang sangat biru (Fe^{2+}) dengan menggunakan antioksidan dalam lingkungan asam. Uji *FRAP* asli menggunakan tripyridyltriazine (TPTZ) sebagai ligan pengikat ion besi. Kerugian dari tes *FRAP* adalah kecenderungan biru Prusia untuk mengendap, membentuk suspensi dan menodai wadah pengukuran. Oleh karena itu, saat penambahan Fe^{3+} (FeCl_3) sangat penting dan dapat menyebabkan kesalahan interpretasi hasil (Munteanu & Constantin, 2021).



Gambar 4. Perubahan warna pada metode FRAP (Munteanu & Constantin, 2021)

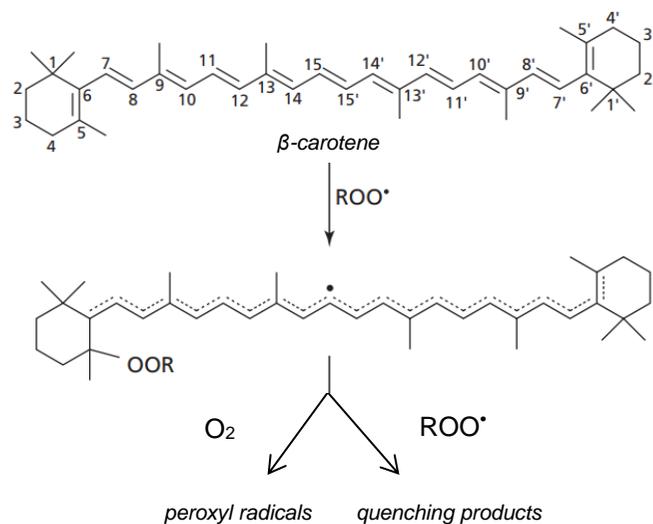
II.5.3.4 *β -carotene bleaching*

β -carotene termasuk salah satu senyawa antioksidan, dimana struktur *β -carotene* menunjukkan peran yang penting terhadap perlindungan asam lemak tak jenuh dan juga mampu memadamkan radikal bebas termasuk NO_2^\cdot dengan melakukan transfer elektron. Namun, aktivitas antioksidan *β -carotene* sangat dipengaruhi oleh tekanan parsial oksigen. (Prieto, *et al.*, 2009).

Metode ini mengukur aktivitas antioksidan berdasarkan perubahan warna *β -carotene* dalam emulsi dengan asam linoleat. Asam linoleat sebagai asam lemak tak jenuh sangat mudah mengalami oksidasi. Pembentukan radikal dari asam linoleat distimulasi dari pemanasan yang dilakukan pada

suhu sekitar 50 °C. Radikal bebas yang terbentuk memicu terjadinya oksidasi terhadap β -carotene yang memiliki warna khas kekuningan. Adanya antioksidan dari bahan yang diujikan akan mencegah oksidasi β -carotene dan mempertahankan warna dari β -carotene. (Prieto, et al., 2012; Nagarajan et al., 2017).

Kuantifikasi metode ini didasarkan pada memvariasikan tingkat dimana absorbansi β -carotene meluruh (~470 nm) dengan adanya peningkatan konsentrasi dari antioksidan yang sedang dievaluasi. Kelemahan dari metode ini adalah kurangnya reproduktifitas karena kompleksitas dan ketidakstabilan reagen (Prieto, et al., 2012; Nagarajan et al., 2017).



Gambar 5. Reaksi pembentukan radikal β -carotene (Foti & Riccardo, 2009)

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex[®]), *chamber*, corong pisah, evaporator (Heidolph[®]), *microplate 96 well*, *Microplate Reader* (BioTek[®]), oven (Memmet[®]), pipet mikro (Biohit[®]) dan vortex (Thermo[®]).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini aquades (WaterOne[®]), asam linoleat, etanol 70% (Onemed[®]), etil asetat (Merck[®]), kloroform (Merck[®]) lempeng silika gel GF254 (Merck[®]), magnesium sulfat emonohidrat (Merck[®]), metanol (Merck[®]), pereaksi β -carotene, rambut jagung, serbuk silika gel G 60 (Merck[®]) dan tween 20.

II.2 Metode Kerja

II.2.1 Penyiapan sampel

Sampel rambut jagung diperoleh dari limbah perkebunan jagung di Kabupaten Jeneponto, Sulawesi Selatan. Sampel dikumpulkan lalu disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering disortasi kering dan selanjutnya dilakukan perajangan untuk mempermudah proses penyerbukan.