

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG
LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Valetton) DENGAN
METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1 picrylhydrazyl)**

**JUMRIAH
N111 05 009**



4 - 3 - 10
farmasi
1 kg
Indel
24 SKR-F10
JUM
U

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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG
LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Valetton) DENGAN
METODE DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

SKRIPSI

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

**JUMRIAH
N111 05 009**

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

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG
LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Valetton) DENGAN METODE
DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

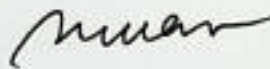
JUMRIAH

N111 05 009

Disetujui oleh :

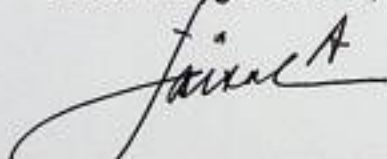
Pembimbing Utama

a.n.



SUBEHAN, S.Si, M.Pharm, Sc Ph.D, Apt
NIP : 19750925 200112 1 002

Pembimbing Pertama,



Prof. Dr. H. FAISAL ATTAMIMI, MS
NIP : 19440428 097110 1 001

Pembimbing Kedua,



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


Pada tanggal Maret 2010

ABSTRAK

Telah dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa besar aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH (*2,2-Diphenyl-1 picrylhydrazil*) dengan ekstrak etanol rimpang Lempuyang Wangi. Ekstraksi rimpang Lempuyang Wangi dilakukan dengan cara refluks dengan etanol 70%. Ekstrak etanol 70% kemudian dipartisi dengan etil asetat diperoleh ekstrak larut etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC_{50} dari ekstrak etanol, larut etil asetat dan tidak larut etil asetat berturut-turut adalah 5,407 mg/ml, 2,100 mg/ml, 10,50 mg/ml. Sedangkan IC_{50} dari Vitamin C adalah 0,031 mg/ml.

ABSTRACT

An investigation on antioxidant activity of Lempuyang Wangi rhizome (*Zingiber aromaticum* Valetton) ethanol extract has been conducted. The aim of this research was to determine scavenging potency of extracts to DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil) free radical. Lempuyang Wangi rhizome was extracted by reflux in 70% ethanol. The 70% ethanol extract was partitioned with ethyl acetate to give soluble and insoluble ethyl acetate fractions. Antioxidant activity test indicated IC₅₀ values of ethanol, ethyl acetat soluble and ethyl acetat insoluble fraction were 5.407 mg/ml, 2.100 mg/ml, 10.50 mg/ml respectively, whereas the IC₅₀ of ascorbic acid was 0.031 mg/ml.



UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat berupa kesehatan yang baik sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada: bapak Subehan, S.Si, M.Pharm, Sc.Ph.D, Apt selaku pembimbing utama, bapak Prof. Dr. H. Faisal Attamimi, MS selaku pembimbing pertama, dan ibu Mufidah, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing kedua atas keikhlasan meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran, semangat serta pengalaman berharga bagi penulis.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya juga penulis sampaikan kepada: Dekan Fakultas Farmasi UNHAS, Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi UNHAS, bapak Drs H. Kus Haryono MS. selaku penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan dan masukan yang bermakna selama hampir lima tahun ini, bapak dan ibu Dosen serta pegawai Jurusan Farmasi UNHAS.

Teramat khusus, rasa bangga dan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada Ayahanda Kapten INF M. Bin Muh Yusuf dan Ibunda St. Herlina yang tidak pernah merasa lelah memberikan dorongan moril dan bantuan material, serta doa yang tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Kepada kakak Mahathir serta adikku tersayang Syahrul, Hardiyanti dan Hardiyanto serta keluarga

besarku atas bantuan, cinta dan doanya. Special thanks to *Hambali ST* atas cinta, doa, bantuan, dan semangatnya.

Kepada seluruh teman-teman angkatan 2005 tanpa terkecuali, Lukman, Ahyar, Emil Syahrul, M. Arifuddin, Nurcholis, Leksi Paseru, M. Nur Amir, Sahabat-sahabatku Sitti Syarmiati Syam, Mardia Abdullah, Sumarni, Hafsa, Nangsih S Slamet, A. Asty Safarida, Nur Ikhsani Yusuf, Hasna Hidayanti, St. Mahfiah, teman-teman di pondok Roman Nurul Haq (Musriadi Pagalla, Syafriadi, Nurjamila, Ridwan, Mahfud, Suryono Nur SH, Wawan, Muh. Ridwan, Sri Wahyuni, Abdi, Akram Hadinata, Asriani, Irmayanti, Subehan) atas semua bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan, oleh karena itu kritik dan saran sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca.

Makassar, Maret 2010

Jumriah

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman.....	4
II.1.1 Klasifikasi.....	4
II.1.2 Nama Daerah.....	4
II.1.3 Morfologi Tumbuhan.....	4
II.1.4 Kandungan Kimia.....	5
II.1.5 Tempat Tumbuh.....	5
II.1.6 Kegunaan Tumbuhan.....	5
II.2 Radikal Bebas.....	6
II.2.1 Pengertian Umum.....	6
II.2.2 Pembentukan Radikal Bebas Dalam Tubuh.....	7
II.3 Uraian Umum Antioksidan.....	9

II.3.1 Jenis-jenis Antioksidan.....	11
II.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan.....	13
II.4 Uji Aktivitas Antioksidan.....	13
II.5 Uraian Vitamin C.....	17
II.6 Uraian Umum Tentang DPPH.....	18
II.7 Uraian Umum Flavonoid.....	19
II.7.1 Klasifikasi Flavonoid.....	20
II.7.2 Peranan Flavonoid.....	20
II.7.3 Kelarutan Flavonoid.....	21
II.8 Metode Ekstraksi.....	22
II.8.1 Definisi Ekstrak.....	22
II.8.2 Definisi Ekstraksi.....	22
II.8.3 Tujuan Ekstraksi.....	23
II.8.4 Ekstraksi Secara Refluks.....	24
II.8.5 Ekstraksi Senyawa Flavonoid.....	24
II.9 Spektrofotometer UV-VIS.....	25
II.9.1 Prinsip Dasar.....	25
II.9.2 Serapan oleh Senyawa.....	27
II.9.3 Peralatan Spektrofotometer.....	28
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	30
III.1 Alat dan Bahan.....	30
III.2 Metode Kerja.....	30
III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel.....	30

III.2.1.1 Pengambilan Sampel.....	30
III.2.1.2 Pengolahan Sampel.....	31
III.3 Ekstraksi Sampel.....	31
III.4 Partisi dengan Etil Asetat.....	31
III.5 Prosedur Uji Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH.....	32
III.5.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM.....	32
III.5.2 Pengukuran Daya Antiradikal Bebas.....	32
III.5.2.1 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Blanko.....	32
III.5.2.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel.....	32
III.5.2.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
IV.1 Hasil Penelitian.....	35
IV.2 Pembahasan.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
V.1 Kesimpulan.....	38
V.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel		halaman
1.	Potensi aktivitas antiradikal bebas ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Wangi (<i>Zingiber aromaticum</i> Valetton).....	35
2.	Harga Probit Sesuai Persentasenya.....	52
3.	Hasil Pengukuran Serapan DPPH yang tidak terikat oleh Lempuyang Wangi (<i>Zingiber aromaticum</i> Valetton).....	53
4.	Hasil Pengukuran Serapan DPPH yang tidak terikat oleh Vitamin C.....	54
5.	Hasil Perhitungan IC ₅₀ Rimpang Lempuyang Wangi (<i>Zingiber aromaticum</i> Valetton).....	55
6.	Hasil Perhitungan IC ₅₀ Vitamin C.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur kimia molekul DPPH.....	18
2. Struktur flavonoid.....	19
3. Kerangka Dasar flavonoid.....	20
4. Diagram sederhana spektrofotometer.....	29
5. Diagram hubungan antara sampel dengan nilai IC_{50} pada uji aktivitas antioksidan DPPH.....	35
6. Tanaman Lempuyang Wangi.....	56
7. Kurva absorbansi DPPH.....	56
8. Kurva absorbansi DPPH untuk Vitamin C.....	57
9. Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh Vitamin C....	57
10 Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh Vitamin C.....	57
11 Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak larut etil asetat <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton.....	58
12 Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak larut etil asetat <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton.....	58
13 Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak etanol <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton.....	58
14 Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak etanol <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton.....	59
15 Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak tidak larut etil asetat <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton.....	59
16 Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak tidak larut etil asetat <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton.....	59

17	Grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak etanol <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton dengan nilai probit.....	60
18	Grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak larut etil asetat <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton dengan nilai probit.....	60
19	Grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak tidak larut etil asetat <i>Zingiber aromaticum</i> Valeton dengan nilai probit...	60
20	Grafik hubungan antara log konsentrasi Vitamin C dengan nilai probit.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Ekstraksi.....	42
2. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal Bebas ekstrak etanol.....	43
3. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal Bebas ekstrak tidak larut etil asetat.....	44
4. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal Bebas ekstrak larut etil asetat.....	45
5. Contoh Perhitungan Daya Antiradikal Bebas.....	46
6. Contoh Perhitungan IC_{50}	47
7. Contoh Perhitungan Persamaan Regresi Linear.....	50

BAB I

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dipermukaan kulit luarnya sehingga dia berusaha mencapai elektron dari jaringan-jaringan yang ada di dalam tubuh kita yang disusun oleh sel-sel. Radikal bebas yang mencapai elektron dalam tubuh kita mulai merusak sel, lalu protein, enzim dan kemudian inti sel dimana DNA dibentuk yang menyebabkan kerusakan-kerusakan pada sel-sel yang berakibat pada timbulnya Penyakit Jantung Koroner (PJK), kanker, katarak, dan penyakit degeneratif (1). Oleh karena itu tubuh membutuhkan suatu substansi penting yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (2).

Terdapat tiga macam antioksidan yaitu antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathione peroxidase, peroxidase dan katalase, antioksidan sintetik yang terbuat dari bahan-bahan kimia yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propil Galat (PG), dan Tetra-Butil Hidrokuinon (TBHQ) dan antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavanoid dan senyawa fenolik (1). Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti

kanker, degeneratif dan penyakit jantung koroner. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas (3,4).

Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan oleh masyarakat sebagai jamu untuk kesehatan yaitu *Zingiber aromaticum* Valetton atau biasa disebut Lempuyang Wangi dan merupakan tanaman yang berkhasiat obat. Telah dilakukan Isolasi senyawa aktif dari tumbuhan ini dan didapatkan 18 senyawa diantaranya senyawa sesquiterpen seperti zerumbone, zerumbone epoksida, dan tricyclohumuladiol, senyawa gingerol seperti *(S)*-6-gingerol, *(S)*-8-gingerol, *(S)*-10-gingerol, senyawa shogaol seperti *trans*-6-shogaol, *trans*-10-shogaol, senyawa flavonoid yaitu *kaempferol-3-O-methyl ether*, *kaempferol-3,4'-di-O-methyl ether*, dan senyawa β -sitosterol dan β -sitosterol glucoside. Senyawa zerumbone pada Lempuyang Wangi efektif sebagai suatu agen antikanker, yang mungkin dipengaruhi *apoptosis* dan *antiproliferative* yang belakangan ini sedang diselidiki (5,6).

Metode aktivitas antiradikal bebas DPPH merupakan metode terpilih dan secara luas digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan bahan alam. Penggunaan dari metode ini menggunakan parameter IC_{50} (konsentrasi substrat untuk menghasilkan 50% pengurangan dari DPPH). Beberapa rekomendasi disepakati sebagai metode yang paling cocok untuk penentuan aktivitas antioksidan (7,8). Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian ini untuk menentukan aktivitas antioksidan dari

rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton) dan pembanding yang digunakan adalah asam askorbat (Vitamin C).

Maksud dan tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menguji berapa besar aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan tentang Lempuyang Wangi dari famili *Zingiberaceae* sebagai antioksidan alami, yang selama ini kurang dikenal secara luas dan nilai jualnya yang cenderung rendah.

Darjah : Zingiberaceae

Kelas : Zingiberales

Marga : Zingiber

Jenis : *Zingiber aromaticum* Valetton (1931)

1.2 Nama Daerah

Jawa : Lempuyang Wangi

Madura : Lempuyang Wangi

Banawa : Lempuyang Wangi

1.3 Deskripsi Tumbuhan

Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton), merupakan tanaman semi tahunan yang dibudidayakan di dataran rendah. Tanaman ini memiliki batang yang tegak, beruas, dan berbulu halus. Batang ini berakar merambat yang menjalar di atas tanah, dan akan menggantung akar adventif jika ditanam di tempat yang lembab. Tanaman ini juga memiliki akar

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Jenis	: <i>Zingiber aromaticum</i> Valetton (9,10)

II.1.2 Nama Daerah

Jawa	: Lempuyang Wangi
Madura	: Lempuyang Room
Sumatera	: Lampuyang (9)

II.1.3 Morfologi Tumbuhan

Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton), merupakan tanaman terna berbatang semu dengan tinggi sekitar 1 meter. Daunnya berpelelah pendek, berbentuk lanset. Bunganya berbentuk mayang yang tersembul di atas tanah, berwarna kuning atau jingga kekuningan atau

merah. Rimpangnya berserat, berbau harum, serta berasa pahit dan pedas (11).

II.1.4 Kandungan Kimia

Rimpang Lempuyang Wangi mengandung minyak atsiri 0,5-1,0 %, zerumbone, humulena, dan limonena, saponin, flavonoid, bisabolen, zingiberon, kariofilen, seskuifelandren, kamfer; di samping itu zat pedas gingerol, sogaol, zingeron, paradol, heksahidrokurkumin, dihidrogingerol, informasi lain menyebutkan damar, tanin, resin, pati, gula (5,11,12).

II.1.5 Tempat Tumbuh

Umumnya, tanaman Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton) tersebar di pulau Jawa, baik yang tumbuh liar maupun yang ditanam penduduk sebagai tanaman pekarangan. Lempuyang wangi biasa diperbanyak dengan setek rimpang (11).

II.1.6 Kegunaan Tumbuhan

Untuk mengobati nyeri perut, stomatik, karminatif, penambah nafsu makan, mencret, dan cacingan. Rimpang biasanya digunakan dalam bentuk seduhan rimpang untuk obat asma, merangsang membran mukosa lambung, mengurangi rasa nyeri, pembersih darah, pereda kejang disamping itu sering digunakan juga untuk mengobati penyakit empedu, penyakit kuning, radang sendi, batuk rejan, kolera, anemia, malaria, penyakit syaraf. (5,6,11,12).

CARA PEMAKAIAN DI MASYARAKAT

1. Untuk obat masuk angin

Digunakan 10 gram rimpang segar Lempuyang Wangi; setelah dicuci, diparut, diperas dan disaring, kemudian hasil saringan ditambah 2 sendok makan madu dan 1/2 gelas air matang (panas), diaduk diminum dua kali sehari pagi dan sore sama banyak (12).

2. Untuk obat sakit perut dan menambah nafsu makan

2 jari Lempuyang Wangi, 3 umbi bawang merah dibuat infusa dengan 110 ml air. Untuk anak-anak diminum 2 kali sehari pagi dan sore, setiap kali 2 sendok makan (12).

II.2. Radikal Bebas

II.2.1 Pengertian Umum

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang kehilangan pasangan elektronnya dipermukaan kulit luarnya. Sebagai contoh, molekul oksigen yang normal lengkap pasangan elektronnya rumusnya adalah O_2 , tetapi bila berubah menjadi radikal bebas maka menjadi O_2^{\bullet} atau dinamakan Superoksida (1). Kelompok radikal bebas terdiri dari O_2^{\bullet} (superoksida), HO_2^{\bullet} (hidroperoksil), $\bullet OH$ (hidroksil), $\bullet OOH$ (peroksil), dan NO^{\bullet} (nitrit oksida), singlet oksigen serta ozon (O_3). Sedangkan yang non radikal antara lain $ONOO^{\bullet}$ (peroksi nitrit), $^{\bullet}OCl$ (hipoklorit), $L(R)OOH$ (hidroperoksida) dan H_2O_2 (hidrogen peroksida). Kedua kelompok tersebut sering di istilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau

Reactive Oxygen Species (ROS). Meningkatnya akumulasi dari SOR dapat menimbulkan toksisitas bahkan kematian sel.. Sasaran utama reaksi radikal bebas di dalam sel adalah ikatan-ikatan rangkap dari lipida yang terdapat di dalam membran sel. Akibatnya fluiditas membran akan berkurang dan sederetan reseptor selular akan berkurang (13,14).

Serangan radikal bebas juga dapat menimbulkan penumpukan kalsium dan lipofusin. Radikal bebas dapat pula menjadikan enzim dan protein thiol (-SH) tidak aktif dengan cara pembentukan ikatan silang, maupun denaturasi. Akibatnya sintesis dan degradasi protein terganggu. Jika radikal bebas menyerang asam-asam nukleat, akan menimbulkan gangguan terhadap molekul DNA yang berakibat terbentuknya mutasi basa-basa nitrogen serta berakhir dengan pembentukan karsinogenesis. Beberapa pembahasan mutakhir tentang mekanisme terjadinya penyakit, mensinyalir bahwa stres oksidatif dan radikal bebas sangat berpengaruh keberadaannya (14)

II.2.2 Pembentukan Radikal bebas dalam tubuh

Radikal bebas dapat masuk dan terbentuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat, dan makanan berlemak (1).

A. Melalui Pernafasan

Saat kita melakukan pernapasan akan masuk oksigen (O_2) yang sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk proses pembakaran gula menjadi CO_2 , H_2O , dan energi. Tetapi dengan menghirup asap dari kendaraan

bermotor dapat menyebabkan terjadinya reaksi yang kompleks dalam tubuh dan menghasilkan produk-produk sampingan berupa radikal bebas.

B. Makanan Berlemak

Lemak sangat bermanfaat bagi tubuh kita tetapi konsumsi lemak yang berlebihan khususnya konsumsi lemak *polyunsaturated* dan lemak hydrogenasi sangat berpotensi menghasilkan radikal bebas. Lemak *polyunsaturated* merupakan lemak tidak jenuh artinya lemak yang mempunyai ikatan rangkap pada atom C-nya. Adanya ikatan rangkap tersebut mudah sekali dioksidasi atau terserang peroksidasi lipid membentuk radikal peroksida lipid. Lemak hydrogenasi adalah lemak yang ikatan rangkap tak jenuhnya telah disubstitusi dengan hidrogen, lemak ini terbuat dari minyak nabati. Akan tetapi jenis lemak hydrogenasi sangat berbahaya karena dapat mengubah kemampuan serap selaput sel sehingga mengakibatkan fungsi selaput sel sebagai pelindung menjadi tidak berarti. Kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh serangan radikal bebas antara lain : (1)

1). Penyakit Jantung Koroner

Penyakit Jantung Koroner (PJK) menjadi *silent killer* nomor satu. Hal ini disebabkan karena molekul besar lemak yang disebut LDL atau *Low Density lipoprotein* teroksidasi antara lain oleh radikal bebas. LDL yang teroksidasi akan mengendap di pembuluh darah jantung sehingga menjadi sempit dan aliran darah terganggu sehingga sebagian sel-sel jantung tidak cukup makanan dan mati.

2). Penyakit kanker

Kanker disebabkan oleh adanya serangan radikal bebas pada DNA dan RNA dalam sel sehingga terjadi pertumbuhan dan perkembangan sel yang abnormal yang menyebabkan kerusakan jaringan.

3). Penyakit Degeneratif

Penyakit degeneratif atau kemerosotan fungsi tubuh disebabkan antara lain karena asam lemak tak jenuh dalam jaringan sel terserang oleh radikal bebas sehingga terjadi reaksi antar sel dan menghasilkan senyawa peroksida yang merusak sel.

4). Proses penuaan

Secara teori radikal bebas dapat dipunahkan oleh berbagai antioksidan, tetapi tidak pernah mencapai 100%. Akibat dari kerusakan jaringan oleh radikal bebas secara perlahan menyebabkan elastisitas kolagen merosot dan kulit menjadi keriput dan timbul bintik-bintik pigmen kecoklatan.

II.3 Uraian Umum Tentang Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein maupun

DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stress oksidatif. Namun demikian, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat melalui 3 cara berikut (13) :

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutus rantai).
3. Memperbaiki kerusakan oleh radikal.

Antioksidan di dalam makanan memiliki peranan penting sebagai faktor perlindungan kesehatan. Bukti ilmiah menyatakan bahwa antioksidan mengurangi resiko untuk penyakit kronis hati/jantung dan penyakit kanker. Sumber antioksidan yang utama secara alami terdapat pada biji-bijian, buah-buahan dan sayur-mayur. Sumber makanan yang mengandung antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, telah dikenal mempunyai potensi untuk mengurangi resiko penyakit. Karakteristik yang utama dari suatu antioksidan adalah kemampuan untuk menjerat radikal bebas. Radikal bebas sangat reaktif dan mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid atau DNA (3).

Seperti halnya radikal bebas yang dihasilkan dari berbagai sel dalam jumlah yang sedikit, maka keberadaan antioksidan di dalam tubuh juga diharapkan untuk mengimbangi reaksi radikal bebas. Antioksidan bertindak melalui mekanisme pemutusan rantai radikal bebas, detoksifikasi serta mengaktifkan enzim-enzim antioksidan (superoksid dismutase, katalase, glutathion peroksidase) termasuk kadar *glutathion*

reduksi (GSH). *Superoksid dismutase* (SOD) adalah enzim yang mengaktivasi reaksi dismutasi dari anion superoksid untuk membentuk hidrogen peroksida. Sebaliknya katalase akan melindungi sel secara langsung, melalui dekomposisi hidrogen peroksida menjadi air (14).

II.3.1 Jenis-jenis Antioksidan

Secara umum antioksidan dikelompokkan menjadi 2, yaitu (13) :

1. Antioksidan enzimatis, misalnya enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase.
2. Antioksidan non-enzimatis yaitu :
 - a. Antioksidan larut lemak, seperti α - tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin.
 - b. Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu (13) :

1. Antioksidan Primer (antioksidan endogenus).

Meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Antioksidan Primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas, dengan

cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

2. Antioksidan Sekunder (antioksidan eksogenus).

Disebut juga antioksidan non-enzimatis. Terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal terjadi dalam cairan ekstraseluler. Antioksidan ini dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C, karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin.

3. Antioksidan Tersier.

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas.

Beberapa studi dan penelitian tentang radikal bebas menyatakan bahwa, status antioksidan dapat ditingkatkan melalui penyediaan bahan makanan tambahan (suplemen) untuk mengurangi beberapa resiko penyakit yang terjadi akibat radikal bebas tadi. Suplemen antioksidan telah banyak digunakan untuk memperlambat proses penuaan, mencegah berbagai penyakit degeneratif serta mengurangi efek samping obat anti kanker (14).

Suplemen antioksidan seperti vitamin C, vitamin E dan β - karoten yang banyak terdapat dalam sayuran dan buah-buahan dapat dipakai untuk mencegah penyakit degeneratif termasuk kanker. Sejauh ini, belum ada data yang melaporkan seberapa besar kadar radikal bebas yang berbahaya dan mampu merusak DNA, serta berapa kadar antioksidan yang aman dikonsumsi (14).

II.3.2 Mekanisme kerja antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan dibagi dalam beberapa jenis diantaranya antioksidan primer, yaitu senyawa yang mengakhiri rantai radikal bebas dalam jenis reaksi oksidasi. Beberapa senyawa antioksidan jika dicampur dapat mempengaruhi kinerjanya dengan efek sinergi. Sinergi yaitu senyawa yang mempunyai sedikit sifat antioksidan tetapi dapat memperbesar efek dari antioksidan primer. Asam askorbat dan asam sitrat memberi efek sinergi terhadap antioksidan yang lain dan sering dipakai sebagai antioksidan dalam pangan (16).

II.4. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode, antara lain :

1. Metode DPPH

Metode DPPH untuk skrining antioksidan diperkenalkan oleh Blois (1958). DPPH merupakan molekul radikal bebas yang stabil yang ditandai oleh delokalisasi cadangan elektron disekeliling molekulnya secara

keseluruhan dengan baik sehingga tidak akan membentuk dimer seperti yang terjadi pada kebanyakan radikal bebas lainnya. Prinsipnya berdasarkan reaksi antara antioksidan dengan DPPH radikal melalui donasi proton. Dengan demikian antioksidan yang bekerja dengan menangkap radikal (*radical scavenger*) dapat dideteksi dengan metode ini. Prinsip penentuan aktivitas antioksidan metode ini berdasarkan pengukuran serapan senyawa hasil reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan. Antioksidan akan mendonorkan protonnya kepada DPPH radikal yang berwarna ungu dan akan menghasilkan senyawa yang tidak berwarna. Besarnya aktivitas dinyatakan dengan nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk meredam 50% radikal DPPH (16).

Pembuatan Reagen larutan DPPH. Ditimbang sebanyak 1,97 mg DPPH dan dilarutkan dengan methanol di dalam labu sampai 100 ml sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 μ M (7). Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH, pipet sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 50 μ M dan tambahkan dengan 0,2 ml metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 - 800 nm (4). Pemeriksaan aktivitas antioksidan, ditimbang ekstrak sebanyak 10 mg, kemudian larutkan dengan 10 ml metanol dalam labu ukur ad 10 ml, maka didapatkan konsentrasi 1 mg/ml. Kemudian lakukan pengenceran dengan menambahkan metanol sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi

(10, 30, 50, 70, 90 µg/ml) Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,2 ml larutan sampel dengan pipet mikro dan masukan ke dalam vial, kemudian tambahkan 3,8 ml larutan DPPH 50 µM. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV - Vis pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai pembanding digunakan asam askorbat (konsentrasi 2,3,4,5,6 µg/ml) dengan perlakuan yang sama dengan sampel uji (4,16). Pengolahan data aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (2):

$$\% \text{ Pengikatan Rad. Bebas} = \frac{\text{Absorb. Blanko} - \text{Absorb. Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100 \%$$

Ket :

Abs kontrol : Serapan radikal DPPH 50 µM pada panjang gelombang 515 nm.

Abs Sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH 50 µM pada panjang gelombang 515 nm.

NILAI IC₅₀

Masing-masing konsentrasi sampel dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier.

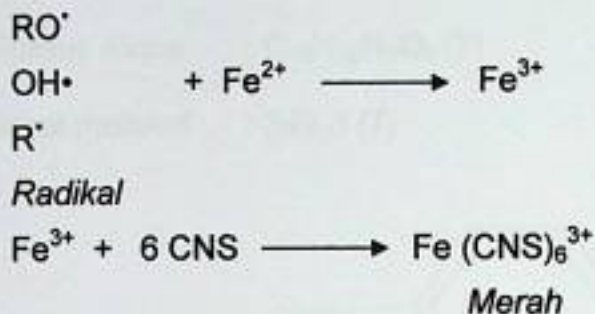
2. Metode tiosianat

Metode ini menggunakan 2,2-azobis (2-amidinopropan) dihidroklorida (AAPH) sebagai inisiator pembentukan radikal. Penguraian senyawa ini terjadi dengan bantuan pemanasan menghasilkan molekul nitrogen dan radikal karbon yang dapat bergabung menghasilkan produk yang stabil atau bereaksi dengan molekul oksigen menghasilkan radikal peroksil, sedangkan lemak yang dioksidasi menghasilkan produk primer peroksida. Dalam metode ini bilangan peroksida dinyatakan sebagai kemampuan senyawa mengoksidasi Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} , selanjutnya Fe^{3+} yang terbentuk bereaksi dengan ion CNS menghasilkan warna merah yang memberikan panjang gelombang maksimum 500 nm. Makin lama waktu inkubasi, nilai absorban makin meningkat, yang berarti bahwa asam linoleat dalam sampel telah mengalami oksidasi. Meningkatnya intensitas warna merah menunjukkan meningkatnya bilangan peroksida. Kemampuan aktivitas antioksidan pada metode tiosianat dilihat dari rendahnya nilai absorpsi yang terbentuk dibandingkan konsentrasi. Makin rendah absorbansi berarti makin sedikit peroksida yang dihasilkan (16).

3. Metode linoleat-tiosianat

Dalam metode ini digunakan asam linoleat sebagai sumber radikal yang merupakan asam lemak tidak jenuh. Radikal ini akan mengoksidasi ion fero (dari feroklorida) menjadi ion feri, dengan adanya ion tiosianat akan menghasilkan kompleks feri-tiosianat yang berwarna merah dan

dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 490 nm. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut : (17)



Mekanisme reaksi oksidasi ion fero oleh radikal bebas

II.5 Uraian Vitamin C

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air. Senyawa ini merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Dalam keadaan murni, vitamin C berbentuk kristal putih dengan berat molekul 176,13 dan rumus molekul $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$. Vitamin C juga mudah teroksidasi secara reversible membentuk asam dehidro L-asam askorbat dan kehilangan 2 atom hidrogen. Vitamin C memiliki struktur yang mirip dengan struktur monosakarida, tetapi mengandung gugus enadiol (13).

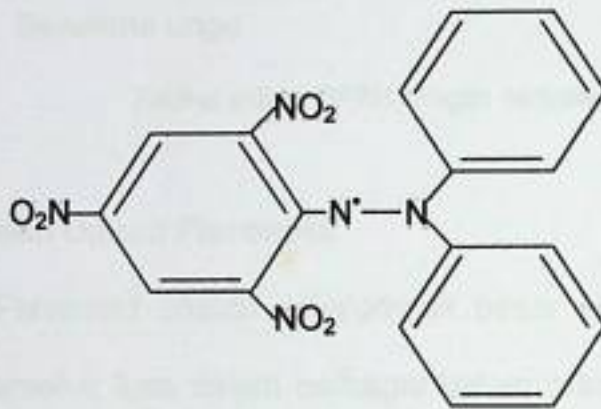
Sebagai antioksidan, vitamin C bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam Cu. Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi dan mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan. Vitamin C banyak ditemukan dalam sayur dan buah-buahan, dalam jaringan tanaman. Daun-daunan hijau mengandung vitamin C dalam jumlah yang sama dengan yang dikandung dalam klorofil (13).

II.6 Uraian Umum Tentang DPPH

Nama kimia : 2,2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl (3)

Rumus Kimia : $C_{18}H_{12}N_5O_6$ (7)

Berat molekul : 349,3 (7)

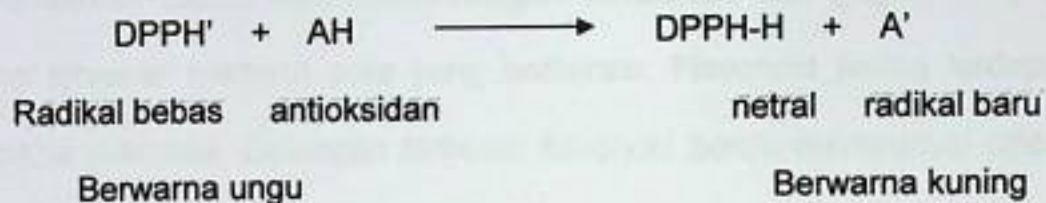


Gambar 1. Struktur kimia molekul DPPH (Sumber : Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin *J. Sci. Technol.* 2004. 26(2). pp. 211-9).

DPPH merupakan molekul radikal bebas yang stabil yang ditandai oleh delokalisasi cadangan elektron disekeliling molekulnya secara keseluruhan dengan baik sehingga tidak akan membentuk dimer seperti yang terjadi pada kebanyakan radikal bebas lainnya (7).

Delokalisasi ini pula yang memberikan warna ungu tua, dicirikan dengan serapan dalam larutan etanol pada 520 nm dan pada larutan metanol 515 nm. Ketika larutan DPPH dicampurkan dengan bahan yang dapat menyumbangkan atom hidrogen maka akan meningkatkan bentuk tereduksi. Larutan DPPH yang berwarna ungu akan berkurang ketika dicampurkan dengan senyawa antioksidan, sebab senyawa antioksidan

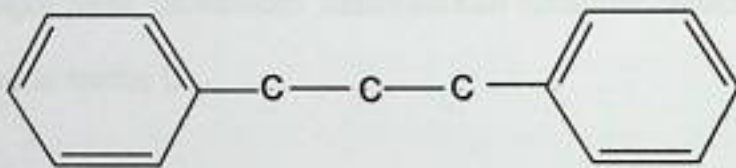
mampu menghambat radikal bebas. Penurunan intensitas warna ungu larutan DPPH akan diperlihatkan sejalan dengan jumlah aktivitas aktioksidan senyawa yang terlihat seperti reaksi berikut : (7)



Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan

II.7 Uraian Umum Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi (4). Golongan Flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. Artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh kerangka alifatik tiga-karbon (18).

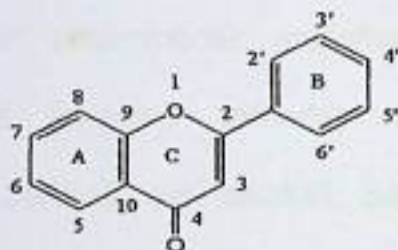


Gambar 2. Struktur Flavonoid (Sumber : Markham K.R. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB. Bandung. 1988. hal 1-2).

Dunia Flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan mulai dari fungus sampai angiospermae. Pada tumbuhan tinggi, flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga (19).

II.7.1 Klasifikasi flavonoid

Kelas-kelas yang berlainan dalam golongan ini dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Golongan terbesar flavonoid berciri mempunyai cincin piran yang menghubungkan rantai tiga-karbon dengan salah satu dari cincin benzene (19).



Gambar 3. Kerangka Dasar Flavonoid (Sumber : Robinson T. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. 6th ed. ITB. Bandung. 1995. hal 191).

Di antara flavonoid khas yang mempunyai kerangka seperti di atas berbagai jenis dibedakan berdasarkan tahanan oksidasi dan keragaman lain pada rantai C₃.

II.7.2 Peranan flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, mereka menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun nonenzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dan dengan demikian melindungi lipid membrane terhadap reaksi yang dapat merusak. Dilaporkan secara terus

menerus bahwa efek antiskorbut tidak seluruhnya disebabkan oleh asam askorbat tetapi sebagian disebabkan oleh turunan katekin yang terdapat dalam buah jeruk. Peran antiskorbut flavanoid ialah melindungi asam askorbat dari oksidasi (19).

Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah, dan juga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Selain itu flavonoid juga memiliki beberapa sifat seperti hepatoprotektif, antitrombotik, antiinflamasi, dan antivirus. Sifat antiradikal flavonoid terutama terhadap radikal hidroksil, anion superoksida, radikal peroksil, dan alkoksil. Senyawa flavonoid memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap ion Fe (Fe diketahui dapat mengatalisis beberapa proses yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas) (19).

II.7.3 Kelarutan Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa, karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar dan umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, *dimetilsufoksida* (DMSO), *dimetilformamida* (DMF), air. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, flavon, dan flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (18).

II.8 Metode Ekstraksi

II.8.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengesktraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung (20), kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (21).

II.8.2 Defenisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian komponen kimia atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis hewan termasuk biota laut. Komponen kimia yang terdapat pada tanaman, hewan dan beberapa jenis ikan pada umumnya mengandung senyawa-senyawa yang mudah larut dalam pelarut organik. Pelarut organik yang paling umum digunakan untuk mengekstraksikan komponen kimia dari sel tanaman adalah methanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat. Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (21).

II.8.3 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan dengan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini berdasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan antara konsentrasi di dalam dan konsentrasi di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif ke luar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (22).

II.8.4 Ekstraksi Secara Refluks

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 (22).

Prinsip kerja pada metode refluks yaitu Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian

seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan.

II.8.5 Ekstraksi Senyawa Flavonoid

Pada umumnya kelarutan flavonoid berbeda-beda terhadap berbagai pelarut sesuai dengan golongan dan substituenya. Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan polaritasnya sehingga untuk mengekstraksi digunakan pelarut yang memiliki polaritas sesuai dengan flavonoid tersebut (18).

Pemilihan pelarut tidak hanya tergantung pada kandungan zat aktif yang diteliti, tetapi juga perlu dipertimbangkan pada bagian mana substansi tersebut diambil. Bila flavonoid terdapat dalam vakuola sel yang umumnya bersifat hidrofilik, maka penyarian dilakukan dengan menggunakan air atau pelarut-pelarut alkoholik. Berbeda jika flavonoidnya terdapat dalam kloroplas yang memerlukan pelarut-pelarut non polar sebelum melakukan penyarian dengan alkohol (18).

Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi atau suatu gula, sehingga flavonoid merupakan senyawa polar maka ia larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, air, dan lain-lain. Adanya gula menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air, dengan demikian campuran air pelarut di atas merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya aglikon yang kurang polar seperti isoflavon,

flavanon, dan flavon serta flavanol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti eter dan kloroform (18).

Umunya pelarut-pelarut alkoholik merupakan pelarut pilihan untuk mengekstraksi semua golongan flavonoid. Bahan segar dapat langsung diekstraksi dengan alkohol absolut, yang kering dan berkayu dapat menggunakan alkohol berair. Glikosida flavonoid dan aglikon seperti flavon terhidroksilasi, flavonol, auron, dan khalkon biasanya diisolasi dengan aseton, alkohol, air, atau kombinasi dari bahan-bahan tersebut. Pelarut yang banyak digunakan untuk mengekstraksi adalah campuran metanol : air (1:1), metanol atau etanol 70% - 80% (18).

II.9 Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur *transmittans* dan *absorbans* suatu contoh sebagai fungsi panjang gelombang, pengukuran terhadap suatu deretan contoh pada suatu panjang gelombang tunggal mungkin dapat juga dilakukan (23).

II.9.1 Prinsip Dasar

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 lebih tinggi (23).

Hubungan antara kadar dengan intensitas sinar yang diserap oleh contoh yang dianalisis dinyatakan oleh hukum Lambert-Beer (23) :

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

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 (wadah yang dipakai spesifik), maka A berbanding lurus dengan c (konsentrasi larutan). Dalam penurunan hukum ini dianggap bahwa, (1) radiasi yang masuk adalah monokromatik, (2) spesies penyerap berkelakuan tidak tergantung satu terhadap lainnya dalam proses penyerapan, (3) penyerapan terjadi dalam volume yang mempunyai luas penampang yang sama, (4) dengan radiasi tenaga adalah cepat (tidak terjadi fluoresensi), dan (5) indeks bias tak tergantung pada konsentrasi (tidak berlaku pada konsentrasi yang tinggi) (24). Untuk penentuan kadar spektrofotometri, yang ditentukan adalah absorpsi maksimum kurva absorpsi. Jika absorpsi ini untuk penentuan kadar sangat rendah atau senyawa mula-mula mengabsorpsi di bawah 220 nm, maka seringkali senyawa diubah dulu menjadi suatu zat warna

melalui reaksi kimia dan absorpsi ditentukan dalam daerah sinar tampak (25).

II.9.2 Serapan oleh Senyawa

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra ultraviolet dan visible dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Oleh karena itu, serapan radiasi ultraviolet/visible sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. Transisi-transisi biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan. Pemisahan tenaga yang paling tinggi diperoleh bila elektron-elektron dalam ikatan- π tereksitasi yang menimbulkan serapan dalam daerah dari 120 hingga 200 nm. Daerah ini dikenal sebagai daerah ultraviolet vakum dan relatif tidak banyak memberikan keterangan. Diatas 200 nm, eksitasi elektron dari orbital-orbital p dan d dan orbital π terutama sistem terkonjugasi- π segera dapat diukur dan spektrum yang diperoleh memberikan banyak keterangan. Meskipun demikian, terdapat keuntungan yang selektif dari serapan ultraviolet yaitu gugus-gugus karakteristik dapat dikenal dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Sebagian besar dari molekul yang relatif kompleks mungkin transparan

dalam ultraviolet sehingga kita mungkin memperoleh spektrum yang semacam dari molekul yang sederhana (25).

II.9.3 Peralatan Spektrofotometer

Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi : (26)

1. Sumber tenaga radiasi

Sumber radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spektrum kontinu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang yang sedang diamati. Sumber-sumber radiasi UV yang kebanyakan digunakan adalah lampu hidrogen. Dan lampu *deuterium*. Terdiri dari sepasang elektroda yang terselubung dalam tabung gelas dan diisi dengan gas 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.

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 radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif atau panjang gelombang tunggal.

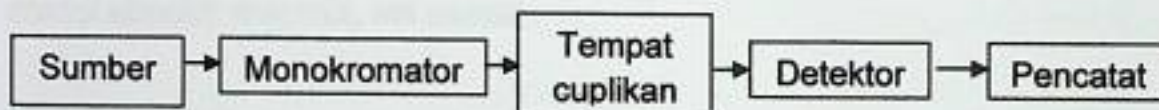
3. Tempat cuplikan

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 nitrat 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.



Gambar 4. Diagram sederhana spektrofotometer (Sumber : Roth. J.H, Blaschke. *Analisis Farmasi*. Terjemahan oleh Kisman S. Ibrahim S. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 1994. hal 374).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat refluks, Erlenmeyer (Pyrex), labu tentukur 5,0 ml; 10,0 ml; 25,0 ml; 50,0 ml, magnetic stirrer (Nouva II Styler), mikropipet (Mettler), neraca analitik (Sartorius), seperangkat alat rotavapor (Buchii), sentrifuse (*Hettich*), seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis (Hewlett Packard), timbangan Kasar (O' Hauss).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton), air suling, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) (Sigma), vitamin C (E. Merck), etanol 70%, etanol absolut, metanol, etil asetat.

III.2. Metode Kerja

III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel Penelitian

III.2.1.1 Pengambilan Sampel

Sampel Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton) di ambil di desa Moncongloe Bulu, kecamatan Moncongloe, kabupaten Maros, Sulawesi-Selatan.

III.2.1.2 Pengolahan Sampel

Sampel Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton), diambil rimpangnya kemudian dicuci bersih dengan air mengalir, dan dipotong tipis-tipis kemudian dikeringkan.

III.3 Ekstraksi Sampel

Serbuk simplisia atau bahan yang akan diekstraksi secara refluks ditimbang sebanyak 50 g kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan ditambahkan pelarut organik yaitu etanol 70% sampai serbuk simplisia terendam kurang lebih 2 cm di atas permukaan simplisia kemudian labu alas bulat dipasang kuat pada statif pada water bath atau hiting mentel selama 4 jam. Filtrat yang dihasilkan ditampung pada wadah penampung dan ampasnya ditambah lagi pelarut dan dikerjakan seperti semula, ekstraksi dilakukan selama 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan rotavapor.

III.4 Partisi dengan Etil Asetat

Sebanyak 5,711 g ekstrak etanol dipartisi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak ditambahkan etil asetat sebanyak 4 kali 50 ml, dilarutkan dan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* kemudian disentrifuse sehingga terpisah menjadi dua bagian. Bagian yang terpisah tersebut ditempatkan pada wadah yang berbeda dan diuapkan, hingga diperoleh, ekstrak larut etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat.

III.5 Prosedur Uji Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH

III.5.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara ditimbang DPPH (*2,2 difenyl-1-pikril hidrazil*) sebanyak 0,0157 g dilarutkan dengan 100 ml etanol absolut dalam labu tentukur (29).

III.5.2 Pengukuran Daya Antiradikal Bebas

III.5.2.1 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Blanko

Dipipet 1 ml DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan etanol absolut dalam labu tentukur. Larutan ini dipindahkan ke dalam wadah vial coklat dan dibiarkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Semua pengerjaan dilakukan pada ruang yang terhindar dari cahaya matahari.

III.5.2.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel

Larutan stok 100 mg/ml disiapkan dengan cara, ditimbang 500 mg ekstrak etanol dan dilarutkan dengan 1 ml air, larutan stok 10 mg/ml disiapkan dengan ditimbang 50 mg ekstrak larut etil asetat dan dilarutkan dengan 1 ml metanol dan larutan stok 50 mg/ml disiapkan dengan ditimbang 250 mg ekstrak tidak larut etil asetat rimpang Lempuyang Wangi dan dilarutkan dengan 1 ml air. Volume akhir dicukupkan dengan etanol absolut hingga 5 ml. Untuk ekstrak etanol, konsentrasi 20 mg/ml, 15 mg/ml, 10 mg/ml dan 5 mg/ml diperoleh dengan dipipet masing-masing

1000 μ l, 750 μ l, 500 μ l, dan 250 μ l larutan stok dan volume dicukupkan dengan campuran etanol absolute hingga 5 ml. Untuk ekstrak larut etil asetat konsentrasi 2 mg/ml, 1,5 mg/ml, 1 mg/ml dan 0,5 mg/ml diperoleh dengan dipipet masing-masing 1000 μ l, 750 μ l, 500 μ l, dan 250 μ l larutan stok dan volume dicukupkan dengan campuran etanol absolute hingga 5 ml. Sedangkan untuk ekstrak tidak larut etil asetat konsentrasi 10 mg/ml, 8 mg/ml, 6 mg/ml dan 4 mg/ml diperoleh dengan dipipet masing-masing 1000 μ l, 800 μ l, 600 μ l, dan 400 μ l larutan stok dan volume dicukupkan dengan campuran etanol absolute hingga 5 ml.

Pengujian dilakukan dengan dipipet 100 μ l larutan sampel lalu ditambah 1,0 ml DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya sampai 5,0 ml dengan etanol absolut. Campuran selanjutnya dihomogenkan dan serapannya diukur setelah 30 menit pada panjang gelombang 515 nm.

III.5.2.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding

Pembanding asam askorbat murni ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol absolut sebanyak 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 bpj sebagai larutan stok. Dari larutan stok masing-masing dipipet 40 μ L, 80 μ L, 160 μ L, dan 320 μ L kemudian dicukupkan volumenya sampai 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 4 bpj, 8 bpj, 16 bpj, 32 bpj.

Pengujian dilakukan dengan dipipet 100 μ L larutan uji dari berbagai konsentrasi ke dalam labu tentukur, lalu masing-masing ditambah 1 ml DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya sampai 5 ml

dengan etanol absolut. Larutan ini dipindahkan ke dalam wadah gelas coklat kemudian dikocok dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm.

Besarnya persentase pengikatan radikal bebas dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Pengikatan Rad. Bebas} = \frac{\text{Absorb. Blanko} - \text{Absorb. Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100 \%$$

Nilai IC_{50} (50% *Inhibitory concentration*) ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase pengikatan radikal bebas (2).

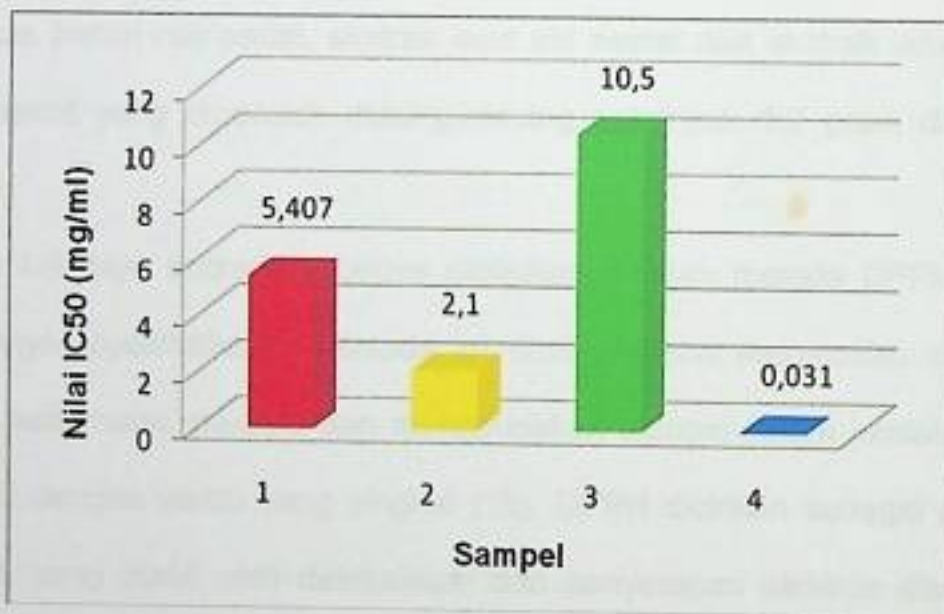
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Tabel 1. Potensi aktivitas antiradikal bebas ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton)

Sampel	Nilai IC ₅₀ (mg/ml) aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH
Ekstrak Etanol	5,407
Ekstrak Larut Etil Asetat	2,100
Ekstrak Tidak Larut Etil Asetat	10,500
Vitamin C	0,031



Gambar 5. Diagram hubungan antara sampel dengan nilai IC₅₀ pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi. 1) ekstrak etanol, 2) ekstrak larut etil asetat, 3) ekstrak tidak larut etil asetat, 4) Vitamin C.

IV.2 Pembahasan

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum rhizoma*) yang di iris kecil-kecil, untuk memperbesar luas permukaan hingga kontak antara cairan penyari dan sampel lebih besar sehingga zat aktif yang diperoleh akan lebih banyak. Setelah itu sebanyak 100 g sampel kering di ekstraksi dengan menggunakan metode refluks. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70 % untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran cukup tinggi. Metode refluks dipilih karena sampel yang digunakan merupakan sampel dengan tekstur keras. Ekstrak kental yang diperoleh pada proses ekstraksi adalah 11,422 g (rendamen ekstrak = 11,42 % b/b). Ekstrak etanol yang diperoleh dipartisi dengan pelarut etil asetat menggunakan metode partisi cair-padat, ekstrak larut etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat yang diperoleh masing-masing sebanyak 1,2 gram dan 3,8 gram.

Uji daya antiradikal bebas dilakukan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Metoda ini dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (16). DPPH dicirikan sebagai radikal bebas yang stabil oleh delokalisasi dari penyerapan elektron diseluruh bagian molekulnya (7), dan dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 515 nm. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan

terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada variasi konsentrasi dengan maksud untuk mempelajari hubungan antara konsentrasi dan efek antioksidatif yang diberikan dalam menghambat terbentuknya radikal dan sebagai pembanding digunakan vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan cara kerja yang sama dengan vitamin E yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Nilai analisis probit ditunjukkan dari persen nilai aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH. Aktivitas antiradikal bebas ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas.

Hasil pengujian yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak larut etil asetat adalah ekstrak yang lebih aktif (nilai IC_{50} 2,1 mg/ml atau 2100 μ g/ml) dibandingkan dengan ekstrak tidak larut etil asetat (nilai IC_{50} 10,5 mg/ml atau 10.500 μ g/ml). Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak lempuyang wangi memiliki efek antioksidan sangat kecil terhadap DPPH. Hal ini dirujuk dari Hanani, (2005) yang menyatakan bahwa IC_{50} kurang dari 200 μ g/ml merupakan antioksidan yang kuat. Hasil yang berbeda dengan dugaan awal tersebut diduga disebabkan oleh metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode refluks, yang merupakan metode ekstraksi panas yang diduga dapat menyebabkan rusak atau hilangnya beberapa komponen yang bersifat antioksidan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V. 1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton) memiliki aktivitas pengikatan radikal bebas yang sangat kecil, dengan nilai IC_{50} pengikatan radikal bebas DPPH ekstrak larut etil asetat dan ekstrak tidak larut etil asetat masing-masing sebesar 2,1 mg/ml dan 10,5 mg/ml.

V. 2 Saran

Sebaiknya dilakukan metode ekstraksi dingin untuk mendapatkan ekstrak yang akan digunakan sebagai antiradikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

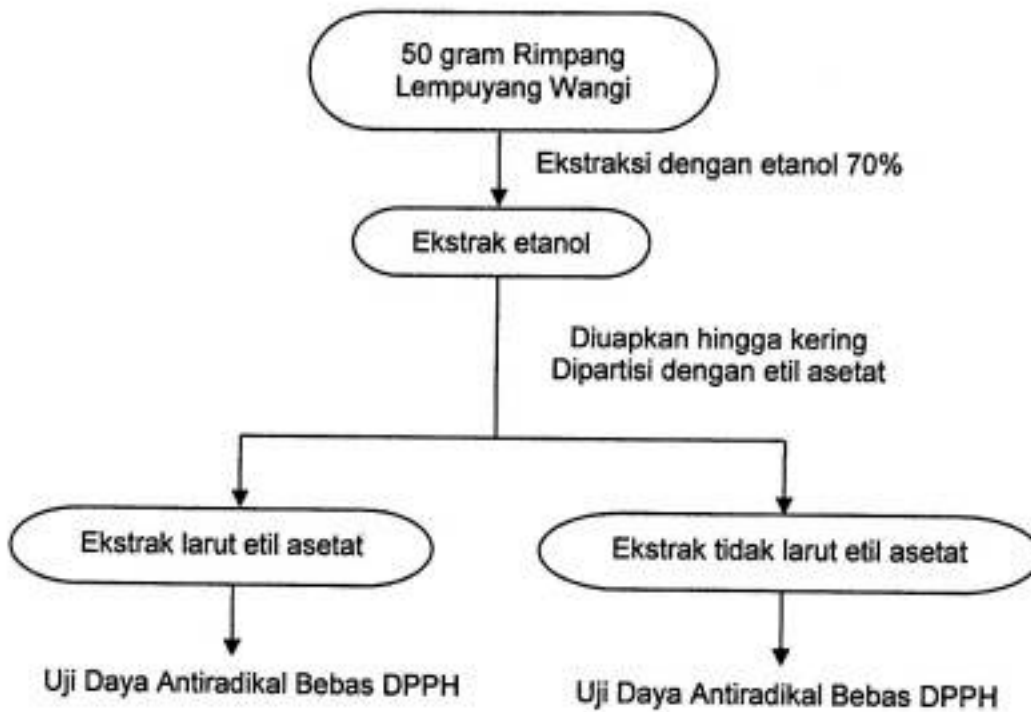
1. Kumalaningsih S. *Antioksidan alami penangkal radikal bebas*. 1st ed. Trubus Agrisarana. Surabaya. 2006. hal 11-12,16.
2. Andayani R, Lisawati Y, Maimunah. Penentuan aktivitas antioksidan kadar fenolat total dan likopein pada buah tomat (*Solanum Lycopersicum L*). Sains. Tek. Far. 2008. 1(13). hal 1410.
3. Prakash A, Rigelhof F, Miller E. Antioksidant activity. Med. Lab. Analytical Progress. 2001 (Dikutip 4 April 2009). www.medallionlabs.com.
4. Okawa M J, Kinjo T., Nohara, M.ono. Modification Method. DPPH (2-2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radical Scavenging Activity Of Flavonoids Obtained From Some Medicinal Plants. *Biol.Pharm.Bull.* 2001. 24 (10). pp 1202.
5. Subehan, Usia T, Kadota S, Tezuka Y. Constituents of *Zingiber aromaticum* and their CYP3A4 and CYP2D6 Inhibitory Activity. *Chem. Pharm. Bull.* March 2005. 53(3). pp. 333-5.
6. Kirana C, Mcintosh G H, Ronald I, Peter G. Antitumor activity of extract of *Zingiber aromaticum* and its bioactive sesquiterpenoid zerumbone. *Nutrition and Cancer*. 2003. 45 (2). pp 218-225.
7. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 2004. 26(2). pp. 211-9.
8. Oliveira I, et al. Total Phenols antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia L*) green husks. *Food. Chem. Tox.* 2008. 46. pp. 2328.
9. Plantamor. Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum Val*). 2008. (Dikutip 1 September 2009). Situs dunia tumbuhan.
10. Kepala Bidang Botani. Hasil identifikasi/determinasi tumbuhan. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Cibinong. 2 April 2009.
11. Agromedia R. *Memfaatkan pekarangan untuk tanaman obat keluarga*. PT. Agromedia Pustaka. 2007. hal 26.

12. Sentra informasi iptek. Tanaman Obat Indonesia. 2005 (Dikutip 1 September 2009).
13. Winarsi H. *Antioksidan alami & radikal bebas*. Kanisius. Yogyakarta. 2007. hal 11-12, 20, 77-81, 137-147, 177-191.
14. Harliansyah. Mengunyah Halia Menyah Penyakit. Ind. Stu. Ass. 2005. pp. 93-5.
15. Wahyudi A. Pengaruh penambahan kurkumin dari rimpang temu giring pada aktivitas antioksidan asam askorbat dengan metode FTC. Akta Kimindo. Oktober. 2006. 2(1). pp 37-40.
16. Hanani E, Mun'im A, Sekarini R, Wiryowidagdo S. Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Spons Laut dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 2006. 6. pp 1-3.
17. Rohman Abd, Sugeng R. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) Secara In Vitro. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2005.16.3. pp 136-140.
18. Markham K.R. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB. Bandung. 1988. hal 1-2.
19. Robinson T. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. 6th ed. ITB. Bandung. 1995. hal 191.
20. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. *Farmakope Indonesia*. 3rd ed. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 1979. hal. 9,871.
21. Harborne J.B. *Metode Fitokimia*. 1st ed. ITB. Bandung. 1984. hal 6-9, 102-3.
22. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Sediaan Galenik*. Edisi II. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bhakti Husada. Jakarta. 1986. pp. 2, 4-7,25.
23. Day Jr.R.A, Underwood A.L. *terjemahan oleh R. Soendoro. Analisis Kimia Kuantitatif*. 5th ed. Erlangga. Jakarta. 1989. hal 383-417.
24. Solomons T.W.G. *Organic Chemistry*. 2nd ed. University of South Florida. New York.1980. pp. 413.

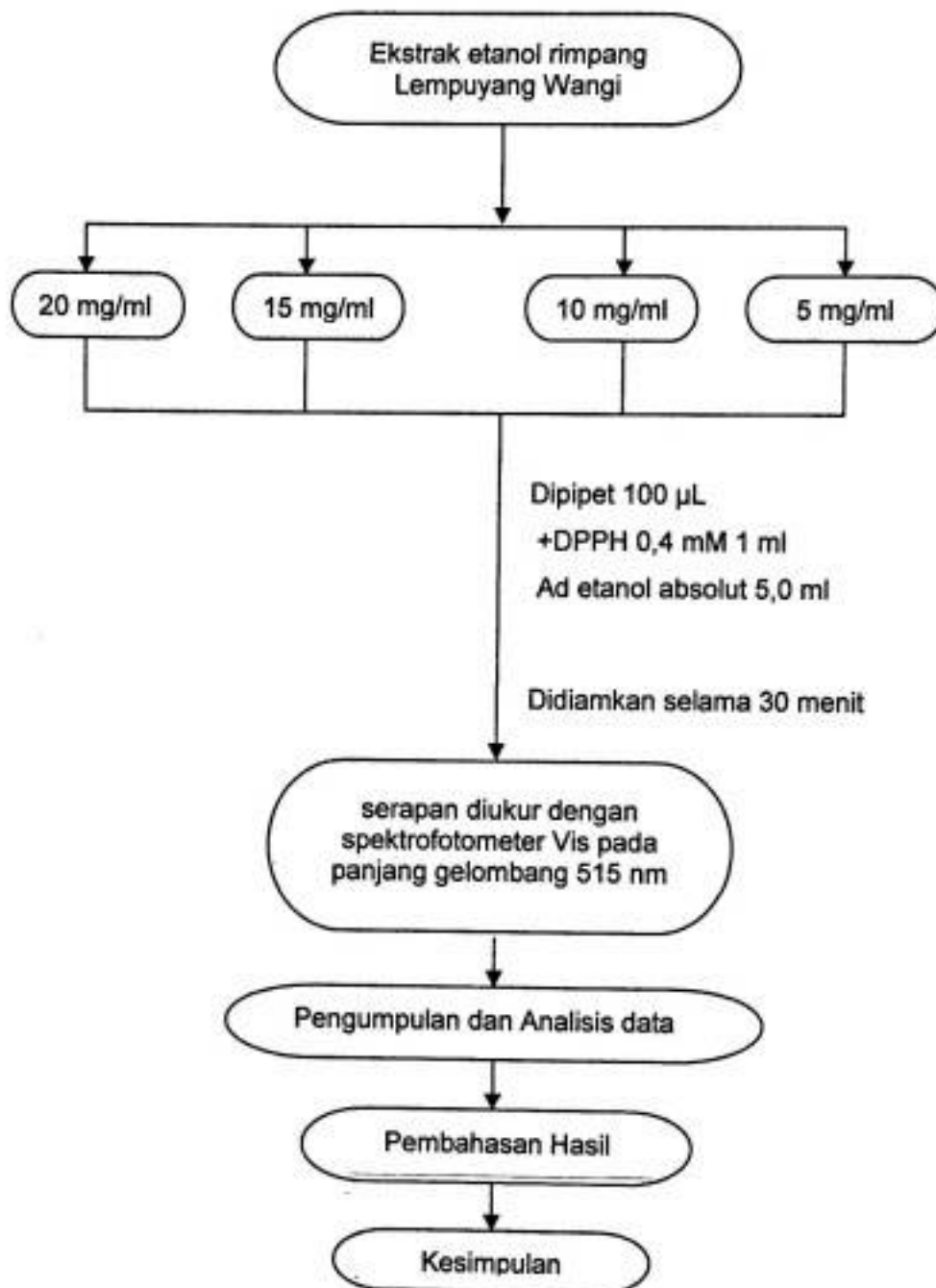
25. Sastrohamidjojo H. *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta. 1985. hal 11-15
26. Roth. J.H, Blaschke. *Analisis Farmasi*. Terjemahan oleh Kisman S. Ibrahim S. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 1994. hal 374.

LAMPIRAN

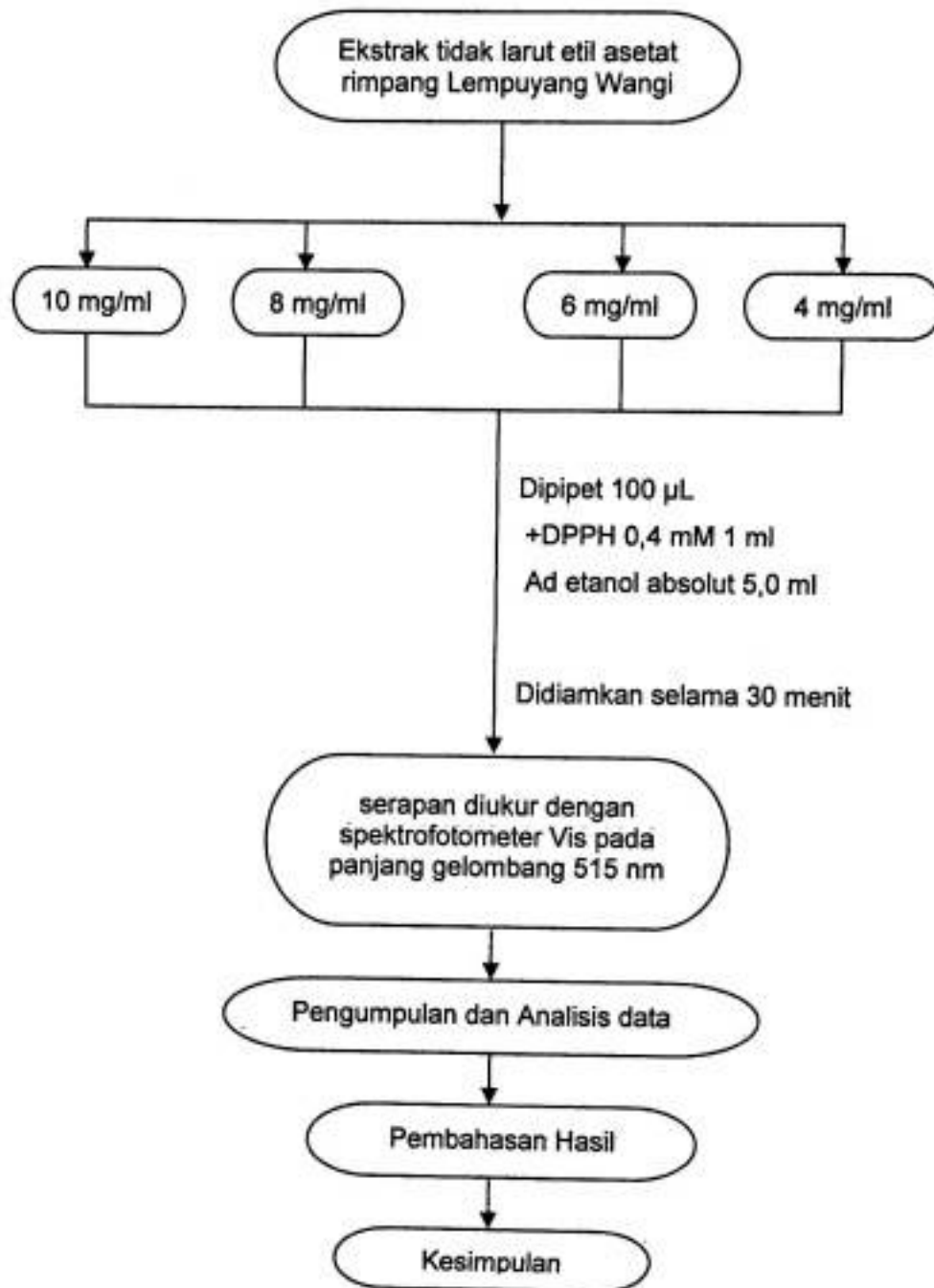
Lampiran 1. Skema Kerja Ekstraksi Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton).



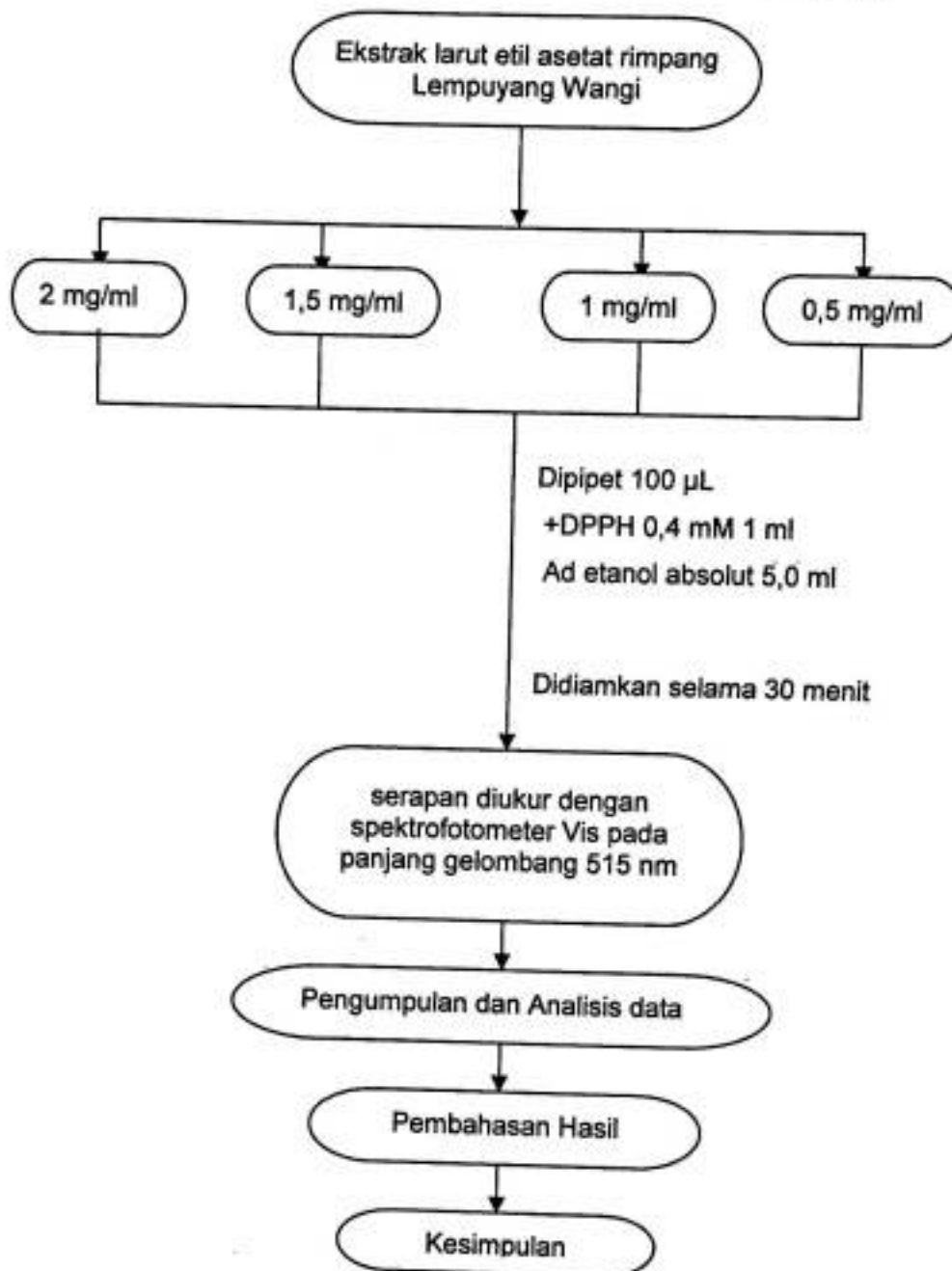
Lampiran 2. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal bebas ekstrak etanol



Lampiran 3. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal bebas ekstrak tidak larut etil asetat



Lampiran 4. Skema Kerja Uji Daya Antiradikal bebas ekstrak larut etil asetat



Lampiran 5. Perhitungan Daya Antiradikal Bebas

$$\text{Daya antiradikal bebas} = \frac{(\text{Abs.blanko} - \text{Abs.sampel})}{\text{Abs.blanko}} \times 100\%$$

Blanko
0,8764
0,8752
0,8742
Rata-rata = 0,8752

Contoh : Ekstrak etanol dengan konsentrasi 5 mg/ml

$$\begin{aligned} \text{Daya antiradikal bebas} &= \frac{(0,8752 - 0,4399)}{0,8752} \times 100\% \\ &= 49,737\% \end{aligned}$$

Ekstrak Etanol

[] mg/ml	abs Sampel	A (Abs Blanko- Abs sampel)	A/ abs Blanko x 100%
5	0,4399	0,4354	49,737
10	0,3853	0,4899	55,977
15	0,3205	0,5547	63,377
20	0,2969	0,5783	66,073

Ekstrak Larut Etil Asetat

[] mg/ml	abs Sampel	A (Abs Blanko- Abs sampel)	A/ abs Blanko x 100%
0,5	0,5319	0,3433	39,229
1	0,5109	0,3644	41,629
1,5	0,4703	0,4049	46,266
2	0,4268	0,4484	51,235

Ekstrak Tidak Larut Etil Asetat

[] mg/ml	abs Sampel	A (Abs Blanko- Abs sampel)	A/ abs Blanko x 100%
4	0,6716	0,2037	23,271
6	0,5553	0,3200	36,558
8	0,5168	0,3584	40,948
10	0,4509	0,4243	48,476

Pembanding Vitamin C

Blanko
0,7777
0,7771
0,7669
Rata-rata = 0,7739

Vitamin C

[] mg/ml	abs Sampel	A (Abs Blanko- Abs sampel)	A/ abs Blanko x 100%
0,004	0,7551	0,0189	2,438
0,008	0,7377	0,0362	4,676
0,016	0,5474	0,2265	29,265
0,032	0,3700	0,4039	52,193

Lampiran 6. Perhitungan IC_{50}

Ekstrak Etanol

[] mg/ml	Log [] (x)	Nilai Probit (y)	Daya antiradikal bebas (%)
5	0,699	4,992	49,737
10	1,000	5,150	55,977
15	1,176	5,341	63,377
20	1,301	5,412	66,073

$$a = 4,4728$$

$$b = 0,7193$$

$$r = 0,9982$$

$$y = a + bx, y = IC_{50} = 5,00$$

$$y = 4,4728 + 0,7193 x$$

$$R^2 = 0,9964$$

$$x = \frac{5 - 4,4728}{0,7193}$$

$$x = 0,7329$$

$$\begin{aligned} \text{Anti log (IC}_{50}) &= 5,407 \text{ mg/ml} \\ &= 5040 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Ekstrak Larut Etil Asetat

[] mg/ml	Log [] (x)	Nilai Probit (y)	Daya antiradikal bebas (%)
0,5	-0,301	4,727	39,229
1	0,000	4,789	41,629
1,5	0,176	4,905	46,266
2	0,301	5,035	51,235

$$a = 4,8425$$

$$b = 0,4888$$

$$r = 0,9397$$

$$y = a + bx, \quad y = \text{IC}_{50} = 5,00$$

$$y = 4,8425 + 0,4888 x$$

$$R^2 = 0,8830$$

$$x = \frac{5 - 4,8425}{0,4888}$$

$$x = 0,3222$$

$$\begin{aligned} \text{Anti log (IC}_{50}) &= 2,100 \text{ mg/ml} \\ &= 2100 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Ekstrak Tidak Larut Etil Asetat

[] mg/ml	Log [] (x)	Nilai Probit (y)	Daya antiradikal bebas (%)
4	0,602	4,268	23,271
6	0,778	4,657	36,558
8	0,903	4,769	40,948
10	1,000	4,960	48,476

$$a = 3,2864$$

$$b = 1,6779$$

$$r = 0,9879$$

$$y = a + bx, y = IC_{50} = 5,00$$

$$y = 3,2864 + 1,6779 x$$

$$R^2 = 0,9759$$

$$x = \frac{5 - 3,2864}{1,6779}$$

$$x = 1,0213$$

$$\text{Anti log}(IC_{50}) = 10,50 \text{ mg/ml}$$

$$= 10500 \mu\text{g/ml}$$

Vitamin C

[C] mg/ml	Log [C] (x)	Daya antiradikal bebas (%)	Nilai Probit (y)
0,004	-2,398	2,438	3,024
0,008	-2,097	4,676	3,324
0,016	-1,796	29,265	4,458
0,032	-1,495	52,193	5,056

$$a = 8,6410$$

$$b = 2,4020$$

$$r = 0,9785$$

$$y = a + bx, y = IC_{50} = 5,00$$

$$y = 8,6410 + 2,4020 x$$

$$R^2 = 0,9575$$

$$x = \frac{5 - 8,6410}{2,4020}$$

$$x = -1,516$$

$$\text{Anti log}(IC_{50}) = 0,0305 \text{ mg/ml}$$

$$= 30,5 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 7. Contoh Perhitungan Persamaan Regresi Linear ekstrak etanol Rimpang Lempuyang Wangi

Log [] X ₁	Nilai Probit (y ₁)	X ₁ Y ₁	X ₁ ²	Y ₁ ²
0,699	4,992	3,489	0,489	24,923
1,000	5,150	5,150	1,000	26,518
1,176	5,341	6,282	1,383	28,530
1,301	5,412	7,041	1,693	29,292
$\Sigma X_1 = 4,176$	$\Sigma Y_1 = 20,895$	$\Sigma X_1 Y_1 = 21,962$	$\Sigma X_1^2 = 4,564$	$\Sigma Y_1^2 = 109,262$
X = 1,044	Y = 5,224			

Persamaan regresi $Y = a + bx$

Y = Nilai Probit

X = Log konsentrasi

n = jumlah data

Berdasarkan rumus :

$$a = \frac{(\Sigma Y_1)(\Sigma X_1^2) - (\Sigma X_1)(\Sigma X_1 Y_1)}{n \Sigma X_1^2 - (\Sigma X_1)^2}$$

$$a = \frac{(20,895)(4,564) - (4,176)(21,962)}{4 \times 4,564 - (4,176)^2}$$

$$a = \frac{95,365 - 91,713}{18,256 - 17,439}$$

$$a = 4,4700$$

$$b = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$b = \frac{4 \times 21,962 - (4,176)(20,895)}{4 \times 4,564 - (4,176)^2}$$

$$b = \frac{87,848 - 87,257}{18,256 - 17,439}$$

$$b = 0,7234$$

Jadi, $y = 4,4700 + 0,7234 x$

Tabel 2. 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
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,66	7,75	7,88	8,09

Sumber : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. *Farmakope Indonesia*. 3rd ed. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 1979. hal. 871.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Serapan DPPH yang tidak terikat oleh Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton)

Sampel	[] mg/ml	Absorban	Rata-rata Absorban	% Pengikatan Radikal Bebas	Absorbansi Blanko
Ekstrak Etanol	5	0,4488	0,4399	49,742	0,8752
		0,4295			
		0,4413			
	10	0,3869	0,3853	55,977	
		0,3913			
		0,3777			
	15	0,3185	0,3205	63,377	
		0,3203			
		0,3228			
	20	0,2987	0,2969	66,073	
		0,2971			
		0,2951			
Ekstrak Larut etil	0,5	0,5304	0,5319	39,229	
		0,5300			
		0,5353			
	1	0,5116	0,5109	41,629	
		0,5079			
		0,5131			
	1.5	0,4760	0,4703	46,266	
		0,4677			
		0,4672			
	2	0,4266	0,4268	51,235	
		0,4266			
		0,4272			
Ekstrak tidak larut etil	4	0,6739	0,6716	23,271	
		0,6751			
		0,6656			
	6	0,5536	0,5553	36,558	
		0,5557			
		0,5565			
	8	0,5092	0,5168	40,948	

		0,5221		
		0,5192		
	10	0,4563	0,4509	48,476
		0,4578		
		0,4388		

Tabel 4. Hasil Pengukuran Serapan DPPH yang tidak terikat oleh Vitamin C

Sampel	[] mg/ml	Absorban	Rata-rata Absorban	% Pengikatan Radikal Bebas	Absorbansi Blanko
Vitamin C	0,004	0,7627	0,7551	2,438	0,7739
		0,7513			
		0,7512			
	0,008	0,7339	0,7377	4,676	
		0,7374			
		0,7419			
	0,016	0,5482	0,5474	29,265	
		0,5502			
		0,5439			
	0,032	0,3773	0,3700	52,193	
		0,3698			
		0,3629			

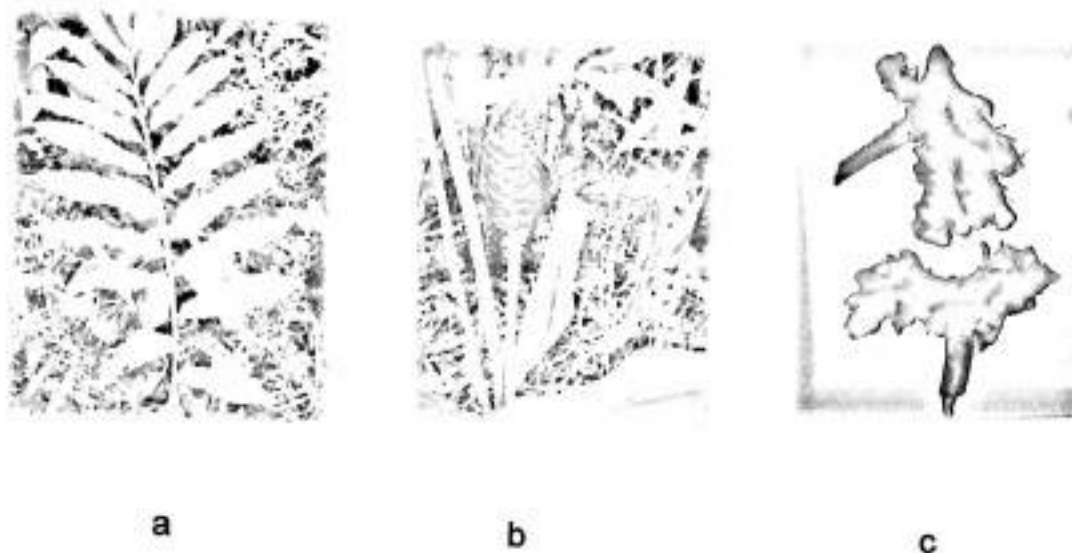
Tabel 5. Hasil Perhitungan IC₅₀ Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton).

Sampel	[] (mg/ml)	Log. [] (x)	% Pengikatan Radikal Bebas	Probit (y)	Persamaan Garis Linear	IC ₅₀ (mg/ml)
Ekstrak Etanol	5	0,699	49,742	4,992	$y = a + bx$	5,407
	10	1,000	55,977	5,150	$y = 4,4728 + 0,7193x$	
	15	1,176	63,377	5,341	$R^2 = 0,9964$	
	20	1,301	66,073	5,412		
Ekstrak Larut etil	0,5	-0,301	39,229	4,727	$y = a + bx$	2,100
	1	0,000	41,629	4,789	$y = 4,8425 + 0,4888x$	
	1,5	0,176	46,266	4,905	$R^2 = 0,8830$	
	2	0,301	51,235	5,035		
Ekstrak tidak larut etil	4	0,602	23,271	4,268	$y = a + bx$	10,5
	6	0,778	36,558	4,657	$y = 3,2864 + 1,6779x$	
	8	0,903	40,948	4,769	$R^2 = 0,9759$	
	10	1,000	48,476	4,960		

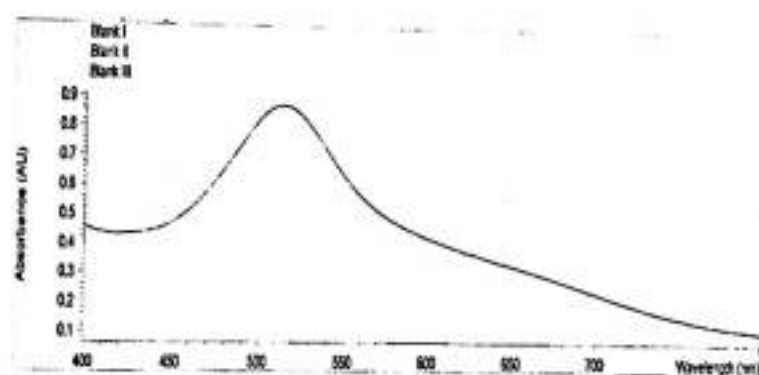
Tabel 6. Hasil Perhitungan IC₅₀ Vitamin C

Sampel	[] (mg/ml)	Log. [] (x)	% Pengikatan Radikal Bebas	Probit (y)	Persamaan Garis Linear	IC ₅₀ (mg/ml)
Vit C	0,004	-2,398	2,438	3,024	$y = a + bx$	0,0305
	0,008	-2,097	4,676	3,324	$y = 8,6410 + 2,4020 x$	
	0,016	-1,796	29,265	4,458	$R^2 = 0,9575$	
	0,032	-1,495	52,193	5,056		

Lampiran Gambar

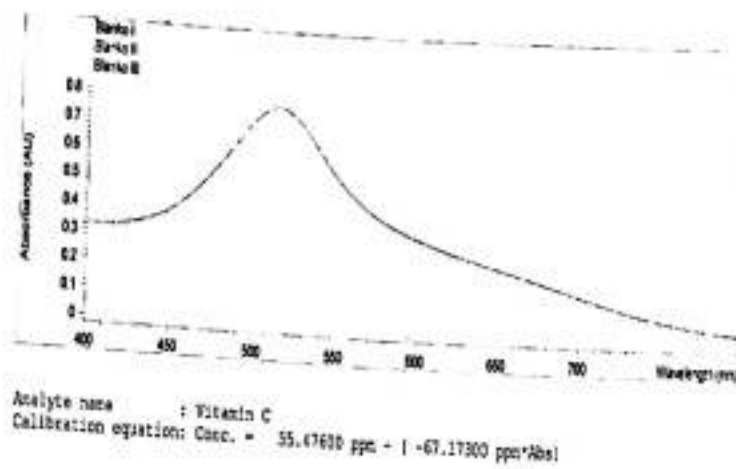


Gambar 6. Tanaman Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Valetton) a. daun, b. bunga, c. rimpang.

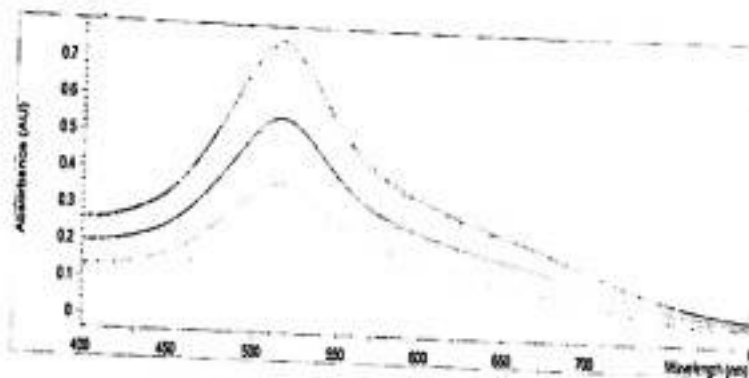


Analyte name : Lempuyang
 Calibration equation: Conc. = $21.51400 * I - 24.01900 * Abs$

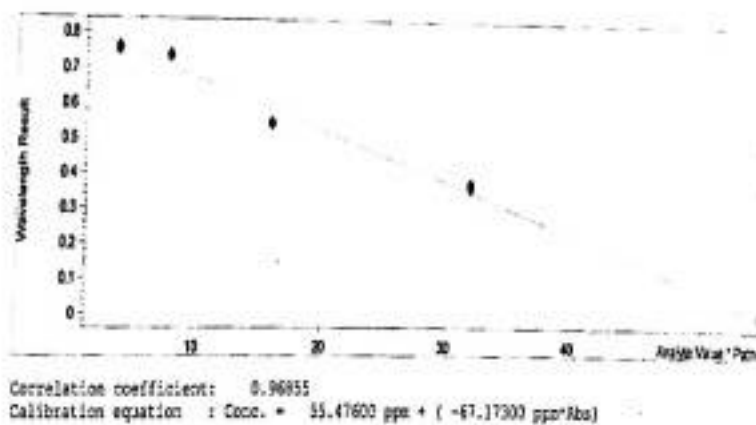
Gambar 7. Kurva absorbansi DPPH.



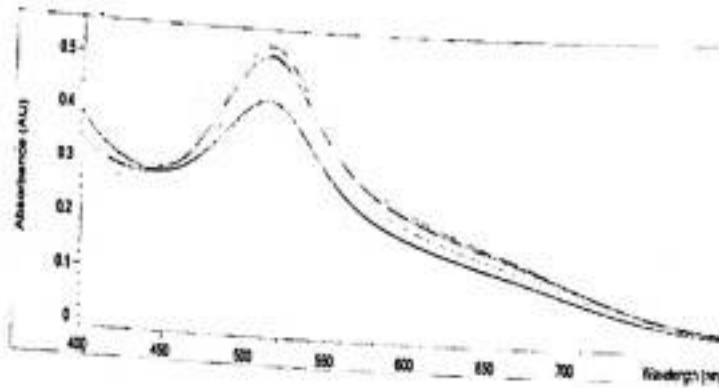
Gambar 8. Kurva absorbansi DPPH untuk Vitamin C.



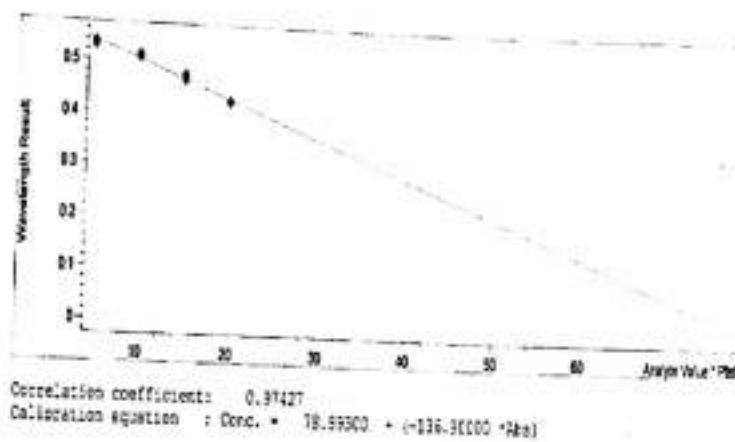
Gambar 9. Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh Vitamin C.



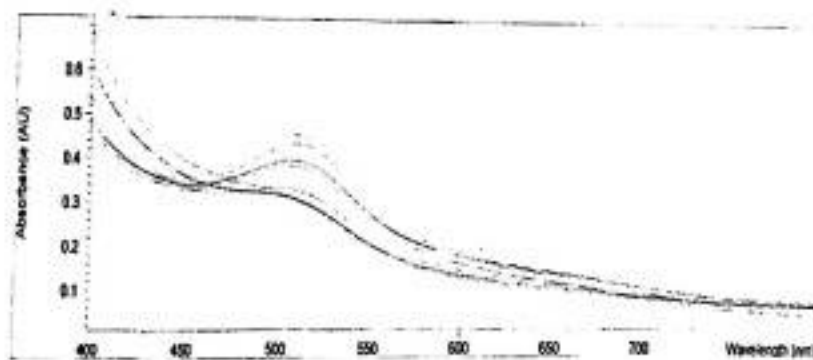
Gambar 10. Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh Vitamin C.



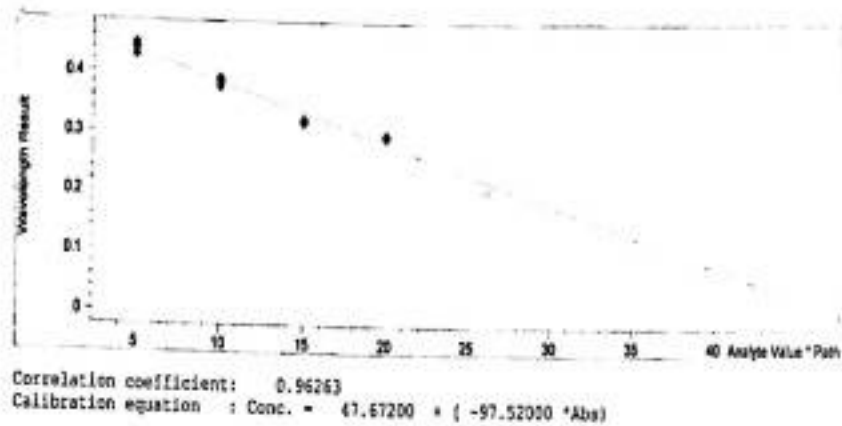
Gambar 11. Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak larut etil asetat *Zingiber aromaticum* Valetton.



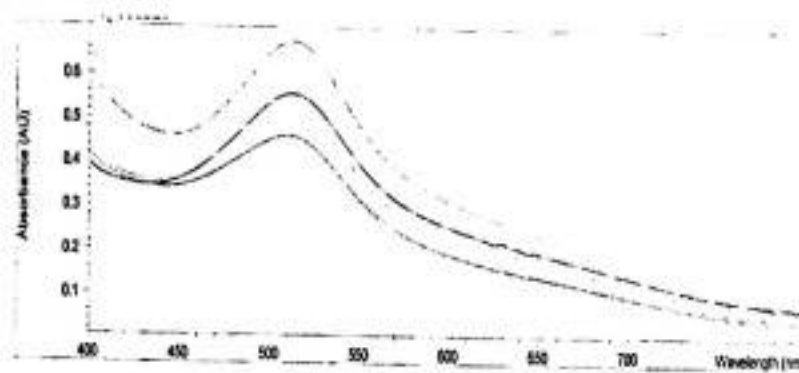
Gambar 12. Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak larut etil asetat *Zingiber aromaticum* Valetton.



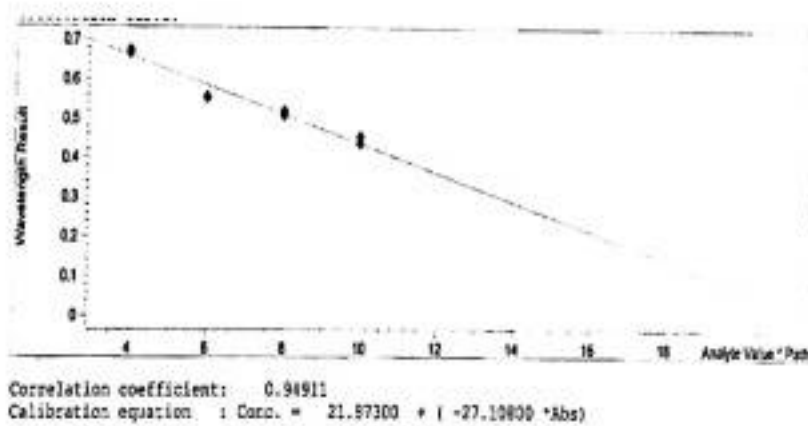
Gambar 13. Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak etanol *Zingiber aromaticum* Valetton.



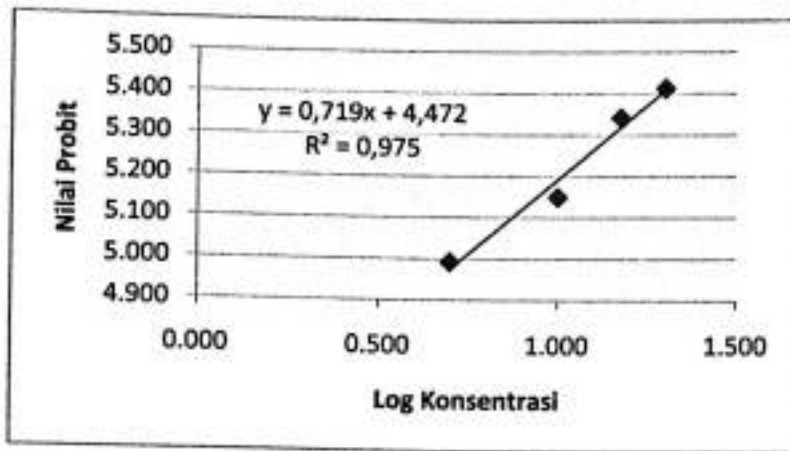
Gambar 14. Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak etanol *Zingiber aromaticum* Valetton.



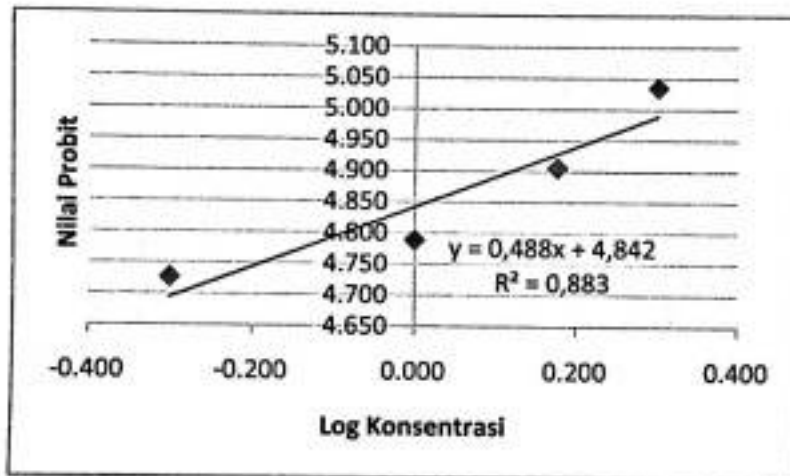
Gambar 15. Kurva absorbansi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak tidak larut etil asetat *Zingiber aromaticum* Valetton.



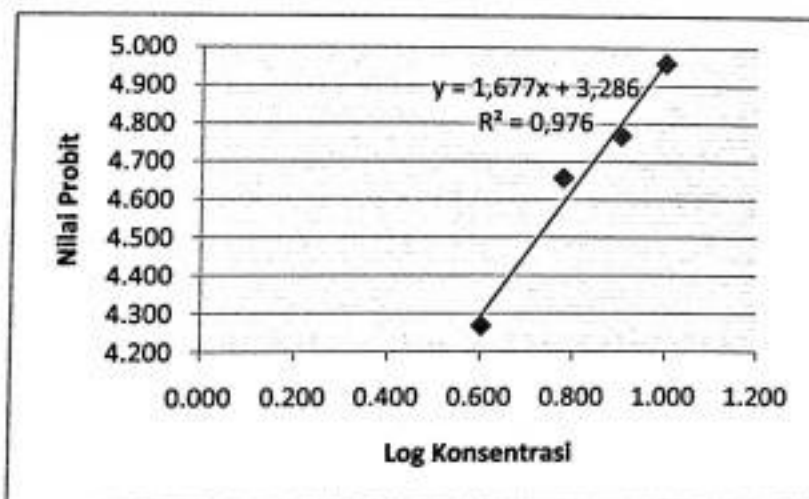
Gambar 16. Kurva kalibrasi DPPH yang tidak terikat oleh ekstrak tidak larut etil asetat *Zingiber aromaticum* Valetton.



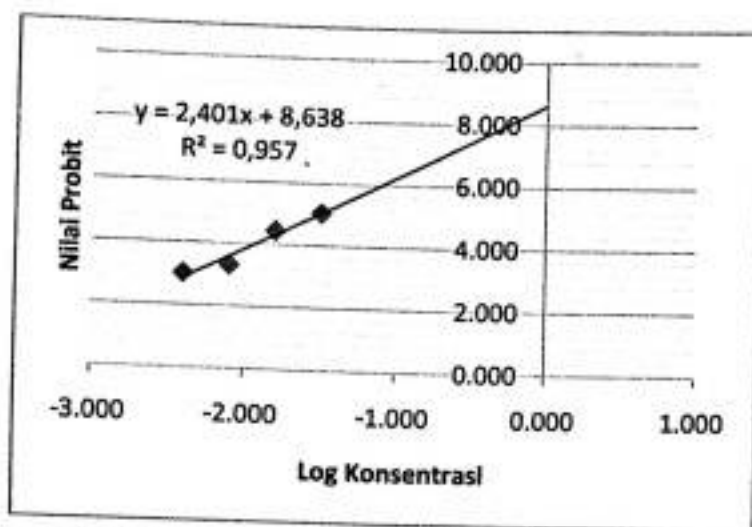
Gambar 17. Grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak etanol *Zingiber aromaticum* Valetton dengan nilai probit.



Gambar 18. Grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak larut etil asetat *Zingiber aromaticum* Valetton dengan nilai probit.



Gambar 19. Grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak tidak larut etil asetat *Zingiber aromaticum* Valetton dengan nilai probit.



Gambar 20. Grafik hubungan antara log konsentrasi Vitamin C dengan nilai probit.



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Nomor : 36/VIPIH.1.02/If.8/IV/2009
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Cibinong, 2 April 2009

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Jumriah
 Jln. Damai Pondokan UNHAS
 Makassar - Sulawesi Selatan

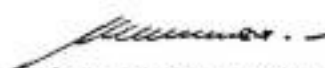
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Lempuyang wangi	<i>Zingiber aromaticum</i> Valetan	Zingiberaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


 Prof. Dr. Eko Baroto Wahujo
 NIP. 195111041975011001