

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI
RIMPANG BANGLE HANTU (*Zingiber ottensii*) DENGAN
MENGUNAKAN METODE DPPH DAN CUPRAC**

LAPORAN TUGAS AKHIR

DINI JUNA'IA ULFAH

11151101



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA
BANDUNG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI
RIMPANG BANGLE HANTU (*Zingiber ottensii*) DENGAN
MENGUNAKAN METODE DPPH DAN CUPRAC**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

Dini Juna'ia Ulfah

11151101

Bandung, Juli 2019

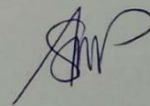
Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Lia Marlani, M.Si., Apt.)



(Asep Roni, M.Si., Apt.)

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI RIMPANG BANGLE HANTU (*Zingiber ottensii*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH DAN CUPRAC

Oleh :
Dini Juna'ia Ulfah
11151101

Antioksidan dibutuhkan untuk mencegah efek radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh dari sumber alami seperti tanaman-tanaman famili Zingiberaceae. *Zingiber ottensii* merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang paling kuat dari ekstrak dan fraksi *Zingiber ottensii*. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut n-Heksan, etil asetat, butanol, dan air. Uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dan CUPRAC. Nilai IC₅₀ peredaman radikal bebas DPPH ekstrak, fraksi n-Heksana, fraksi etil asetat, fraksi butanol, dan fraksi air rimpang *Zingiber ottensii* secara berturut-turut adalah 1120,97 µg/mL, 3042,28 µg/mL, 198,14 µg/mL, 655,49 µg/mL, 2243,01 µg/mL. Dan nilai EC₅₀ metode CUPRAC ekstrak, fraksi n-Heksana, fraksi etil asetat, fraksi butanol, dan fraksi air rimpang *Zingiber ottensii* secara berturut-turut adalah 548,37 µg/mL, 446,93 µg/mL, 97,90 µg/mL, 426,28 µg/mL, 835,27 µg/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat rimpang *Zingiber ottensii* memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat.

Kata kunci: Antioksidan, CUPRAC, DPPH, *Zingiber ottensii*

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF BANGLE HANTU (*Zingiber ottensii*) EXTRACT AND FRACTIONS USING DPPH AND CUPRAC METHODS

By:
Dini Juna'ia Ulfah
11151101

Antioxidants are needed to prevent the effects of free radicals. Antioxidants can be obtained from natural sources such as plants of the family Zingiberaceae. Zingiber ottensii is one of the plants that have the potential as an antioxidant. This study was conducted to find the most powerful antioxidant activity from the extract and fractions of Zingiber ottensii. Extraction was carried out using the maceration method with 70% ethanol. Fractionation of extracts was carried out by liquid-liquid extraction methods using n-Hexane, ethyl acetate, butanol, and water solvents. The antioxidant extracts and fractions activity test was carried out by DPPH and CUPRAC the free radical scavenging methods. IC₅₀ value of DPPH free radical scavenging of extract, n-Hexane, ethyl acetate, butanol, and water fraction of Zingiber ottensii rhizome were 1120.97 µl/mL, 3042.28 µg/mL, 198.14 µg/mL, 655.49 µg/mL, 2243.01 µg/mL in a row. EC₅₀ value of CUPRAC test of extract, n-Hexane, ethyl acetate, butanol, and water fraction of Zingiber ottensii rhizome were 548.37 µg/mL, 446.93 µg/mL, 97.90 µg/mL, 426.28 µg/mL, 835.27 µg/mL in a row. These results show that the ethyl acetate fraction of Zingiber ottensii has the strongest antioxidant activity.

Keywords: *Antioxidant, CUPRAC, DPPH, Zingiber ottensii*

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasi terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, dan terbuka untuk umum. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya. Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI RIMPANG BANGLE HANTU (*Zingiber ottensii*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH DAN CUPRAC”**, tepat pada waktunya.

Adapun maksud penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat untuk mengikuti Tugas Akhir di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dikarenakan oleh segala keterbatasan dan kemampuan yang penulis miliki. Namun penulis berusaha untuk mempersembahkan skripsi ini sebaik-baiknya agar dapat memiliki manfaat bagi banyak pihak. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan guna tercapainya kesempurnaan skripsi ini.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Lia Marliani, M.Si., Apt selaku pembimbing utama dan Bapak Asep Roni, M.Si., Apt selaku pembimbing serta yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan dan sarannya kepada penulis dalam menyelesaikan Skripsi ini.

2. Kedua orang tua tercinta dan kedua adik yang sangat penulis sayangi, yang selalu memberikan doa serta memberi dukungan moral dan material.
3. Seluruh dosen dan staff pengajar yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan.
4. Rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut membantu menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat, khususnya bagi mahasiswa farmasi.

Bandung, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Identifikasi Masalah.....	2
I.3 Batasan Masalah.....	3
I.4 Tujuan Penelitian.....	3
I.5 Manfaat Penelitian.....	3
I.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
Bab II Tinjauan Pustaka.....	4
II.1 <i>Zingiber ottensii</i>	4
II.2 Radikal Bebas.....	6
II.3 Antioksidan.....	8
II.4 Metode Uji Aktivitas Antioksidan.....	9
Bab III Metode Penelitian.....	13
Bab IV Alat dan Bahan.....	14
IV.1 Alat.....	14
IV.2 Bahan.....	14
Bab V Prosedur Penelitian.....	15
V.1 Penyiapan Bahan.....	15

V.2 Karakteristik Simplisia.....	17
V.3 Skrining Fitokimia	19
V.4 Ekstraksi.....	21
V.5. Fraksinasi	21
V.6 Pemantauan Ekstrak dan Fraksi.....	22
V.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan	22
BAB VI Hasil Pengamatan Dan Pembahasan.....	26
VI.1. Penyiapan Bahan	26
VI.2. Karakteristik Simplisia	27
VI.3. Skrining Fitokimia	29
VI.4. Ekstraksi.....	30
VI.5 Fraksinasi	31
VI.6 Pemantauan Ekstrak dan Fraksi	32
VI.7 Uji Aktivitas Antioksidan	34
BAB VII Kesimpulan dan Saran.....	40
VII.1 Kesimpulan	40
VII.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Bagan Alir Kerja.....	45
Lampiran 2 Hasil Determinasi	46
Lampiran 3 Perhitungan IC_{50} Rimpang <i>Zingiber Ottensii</i>	47
Lampiran 4 Perhitungan EC_{50} Rimpang <i>Zingiber Ottensii</i>	49
Lampiran 5 Hasil Pengukuran Vitamin C Metode DPPH.....	51
Lampiran 6 Hasil Pengukuran Vitamin C Metode CUPRAC.....	52
Lampiran 7 Regresi Linier Konsentrasi terhadap Persen Inhibisi Dengan Metode DPPH.....	53
Lampiran 8 Regresi Linier Konsentrasi terhadap Persen Ekshibisi Ekstrak dan Fraksi Metode CUPRAC	58

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar II.1 Rimpang <i>Zingiber ottensii</i>	4
Gambar II.2 Reaksi DPPH dengan Senyawa antioksidan	10
Gambar VI.1 (a) Pemeriksaan Makroskopik Rimpang Segar (b) Pemeriksaan Makroskopik Simpisia <i>Zingiber ottensii</i>	27
Gambar VI.2 Kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu, dengan fase gerak non polar.....	32
Gambar VI.3 Kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu, dengan fase gerak semi polar.	33
Gambar VI.4 Kromatogram ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu, dengan fase gerak polar.	33
Gambar VI. 5 Kurva kalibrasi larutan baku DPPH	35

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel VI.1	Hasil Pemeriksaan Organoleptis Rimpang Segar dan Simplisia <i>Zingiber ottensii</i>	27
Tabel VI.2	Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	28
Tabel VI.3	Hasil Penapisan Fitokimia	30
Tabel VI.4	Rendemen Fraksi Ekstrak Rimpang <i>Zingiber ottensii</i>	31
Tabel VI.5	Larutan Baku DPPH.....	35
Tabel VI.6	Nilai IC ₅₀ Rimpang <i>Zingiber ottensii</i>	37
Tabel VI.7	EC ₅₀ Rimpang <i>Zingiber ottensii</i>	39

DAFTAR SINGKATAN

SINGKATAN	NAMA
HCl	Asam Klorida
NaOH	Natrium Hidroksida
H ₂ SO ₄	Asam Sulfat
AlCl ₃	Alumunium (III) Klorida
FeCl ₃	Besi (III) Klorida
KI	Kalium Iodida
HgCl ₂	Raksa (II) Klorida
CuCl ₂	Tembaga (II) Klorida
CuCl ₂ ·2H ₂ O	Tembaga (II) Klorida dihidrat
NH ₄ Ac	Amonium asetat

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Radikal bebas dapat berasal dari polusi, debu maupun diproduksi secara kontinyu sebagai konsekuensi dari metabolisme normal (Septiana dkk., 2002). Radikal bebas dapat memberikan dampak seperti kerusakan sel atau jaringan dan penyakit degeneratif (Winarsi, 2007). Dampak dari radikal bebas ini dapat dicegah dengan senyawa yang disebut antioksidan.

Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas (Vaya & Aviram, 2001). Aktivitas antioksidan memainkan peran penting dalam berbagai penyakit kronis, termasuk diabetes dan berbagai penyakit inflamasi (Gan dkk., 2010). Senyawa antioksidan dapat diperoleh dari senyawa sintetik maupun senyawa alami. Saat ini masyarakat lebih memilih menggunakan obat tradisional karena dipercaya memiliki efek samping yang lebih ringan dibandingkan obat sintetik. Indonesia memiliki berbagai jenis tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan. Kandungan antioksidan yang terdapat pada tanaman bertindak sebagai penangkal radikal bebas dan membantu mengkonversikan radikal bebas yang kurang reaktif. Antioksidan alami yang terdapat pada seluruh bagian tanaman berupa karotenoid, vitamin, flavonoid, dan fenol (Mandal dkk., 2009). Salah satu

tanaman obat yang dapat digunakan sebagai antioksidan adalah bangle hantu (*Zingiber ottensii*).

Bangle hantu (*Zingiber ottensii*) merupakan tanaman dari famili Zingiberaceae. Secara empiris bangle hantu digunakan sebagai analgetik-antipiretik (obat demam dan pereda nyeri), obat batuk, dan antikonvulsan (obat kejang) terutama untuk anak-anak (Sinaga dkk., 2000). Rimpang bangle hantu mengandung minyak esensial, flavonoid, steroid, tanin, dan senyawa bioaktif lainnya. Flavonoid terkenal karena aktivitas antioksidan yang kuat (Chahar dkk., 2011). Berdasarkan penelitian Estaviani (2017), rimpang *Zingiber ottensii* memiliki aktivitas yang lemah pada fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} 277,17 $\mu\text{g/mL}$.

Meski aktivitas antioksidan *Zingiber ottensii* telah diketahui, namun perlu dilakukukan penelitian dengan menggunakan metode lain, karena suatu senyawa uji menunjukkan daya antioksidan yang tinggi dengan salah satu metode, tidak selalu akan memberikan hasil yang sama baiknya dengan menggunakan metode lainnya. Sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk menambah informasi mengenai aktivitas antioksidan dari *Zingiber ottensii*.

I.2 Identifikasi Masalah

Ekstrak dan fraksi mana yang memberikan aktivitas antioksidan yang paling kuat?

I.3 Batasan Masalah

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi n-Heksana, etil asetat, butanol, dan air dari rimpang bangle hantu menggunakan metode DPPH dan CUPRAC.

I.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang paling kuat dari ekstrak dan fraksi bangle hantu.

I.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan mengenai aktivitas antioksidan, terutama pada tanaman bangle hantu (*Zingiber ottensii*), sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.

I.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2019, di Laboratorium Fitokimia Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 *Zingiber ottensii*

Bangle hantu tersebar mulai dari Thailand hingga Semenanjung Malaya, pada ketinggian 1-150 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan liarnya banyak ditemukan di daerah pantai bagian Timur Pulau Sumatra (Suhono & Tim, 2010). Rimpang bangle hantu dapat dilihat pada gambar II.1.



Gambar II.1 Rimpang *Zingiber ottensii*

II.1.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Sub famili	: Zingiberoideae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber ottensii</i> Val. (Cronquist, 1981).

II.1.2 Nama Daerah

Bangle hantu (Sumatera), panglai hideng (Sunda) (Hidayat & Napitupulu, 2015), bangle hitam (Betawi), bunglai hantu (Pantai Timur Sumatra) (Suhono & Tim, 2010).

II.1.3 Morfologi Tanaman

Bangle hantu merupakan tumbuhan berbatang semu berbentuk bulat, tumbuh tegak dan tingginya mencapai 2 meter. Dari akar rimpangnya tumbuh banyak tunas sehingga membentuk rumpun yang padat. Akar rimpangnya bila dikupas berwarna ungu gelap atau kehitaman. Karena itu, disebut juga sebagai bangle hitam. Akar rimpangnya beraroma tajam. Daun berwarna hijau, terletak berselingan, dan berbentuk lanset. Daun berukuran 41 x 7,5 cm dan yang kecil 28 x 5 cm. Bunga keluar dalam karangan bunga. Mahkota bunganya berwarna kuning pucat dengan coreng-coreng ungu. Buah jarang terbentuk. Perbanyakkan tanaman dilakukan dengan menanam akar rimpang (Suhono & Tim, 2010).

II.1.4 Kandungan Kimia

Zingiber ottensii menghasilkan 0,38% dari minyak yang berwarna pucat kekuningan berbau khas camphorous. Sebanyak 28 komponen diidentifikasi, mewakili 84,9% dari total minyak. Minyak yang terkandung yaitu berupa campuran mono dan seskuiterpen dengan zerumbon, menjadi komponen yang paling berlimpah dari total yang ada (Hidayat., Napitupulu, 2015). Minyak esensial dari rimpang *Zingiber ottensii* mengandung campuran zerumbone, terpinen-4-ol, p-cymene, sabinene, humulene (Thubthimthed dkk., 2005). Daun

Zingiber ottensii mengandung 37 komponen utama sebagai trans-caryophyllene, β -elemene, zerumbone, 1,5-cyclodecadiene, (-) caryophyllene (Marliani dkk., 2018). Menurut Patonah dkk (2017), *Zingiber ottensii* memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, dan fenol.

II.1.5 Manfaat

Secara empiris bangle hantu digunakan untuk mengobati demam, batuk, kejang pada anak, menghangatkan dan membersihkan darah dan sebagai obat sakit pinggang (Hidayat., Napitu, 2015). Rebusan akar rimpang bangle hantu digunakan untuk mengobati demam dan kejang. Akar rimpang biasa pula dicampur dengan bahan obat lainnya dalam ramuan jamu-jamuan (Suhono & Tim, 2010).

II.1.6 Tinjauan Farmakologi

Menurut Noverita dkk (2009), isolat endofit hasil isolasi dari tanaman *Zingiber ottensii* memiliki daya antibakteri yang signifikan dan tampaknya bersifat broad spectrum terhadap bakteri gram positif (*S.aureus*) dan bakteri gram negatif (*E.coli*). Menurut Kantayos & Yinyong (2012), *Zingiber ottensii* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 32,81 mg/mL (DPPH) dan IC₅₀ sebesar 49,10 mg/mL (ABTS).

II.2 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan,

dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya. Jika elektron yang terikat radikal bebas bersifat ionik, dampak yang ditimbulkan memang tidak begitu berbahaya. Namun bila elektron yang terikat radikal bebas berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, akan sangat berbahaya karena ikatan digunakan bersama-sama. Umumnya senyawa yang memiliki ikatan kovalen adalah molekul-molekul besar (biomakromolekul).

Dalam tubuh terdapat 4 kelompok biomakromolekul yang menyusun sel, yaitu protein, asam nukleat, lemak, dan polisakarida. Molekul-molekul tersebut mendukung fungsi biologis yang sangat mendasar. Bila terjadi kerusakan pada salah satu atau beberapa dari molekul tersebut, pasti akan menimbulkan efek yang sangat mengganggu (Winarsi, 2007).

Berbagai kemungkinan dapat terjadi sebagai akibat kerja dari radikal bebas. Misalnya, gangguan fungsi hati, kerusakan struktur sel dan bahkan mutasi. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu munculnya berbagai penyakit. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas bermacam-macam, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif.

Tanpa disadari, dalam tubuh kita terbentuk radikal bebas secara terus menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti polusi lingkungan, ultraviolet (UV), asap rokok dan lain-lain. Dari pernyataan ini dapat diyakini bahwa dengan

meningkatnya usia seseorang, pembentukan radikal bebas juga akan meningkat. Oleh sebab itu, tubuh kita membutuhkan substansi penting, yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Winarsi, 2007).

II.3 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. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer, apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C, karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin. Kelompok antioksidan tersier meliputi sintesis enzim

DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas (Winarsi, 2007).

Aktivitas antioksidan memainkan peran penting dalam banyak penyakit kronis, termasuk penyakit jantung, diabetes, dan berbagai penyakit inflamasi (Gan dkk., 2010). Antioksidan alami yang terdapat pada seluruh bagian tanaman berupa karotenoid, vitamin, flavonoid, dan fenol (Mandal dkk., 2009).

II.4 Metode Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya metode DPPH, CUPRAC, ABTS, FRAP, xantin oksidase, dan tiosianat.

II.4.1 DPPH

Prinsip dari metode DPPH ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri Uv-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004).

senyawa antioksidan dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks bisneokuproin-tembaga(I). Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah. Metode pengukuran kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode CUPRAC memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan metode pengukuran antioksidan yang lain yaitu reagen CUPRAC cukup cepat untuk mengoksidasi tiol jenis antioksidan, pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi selektif karena potensi redoksnya lebih rendah. Metode ini dapat mengukur hidrofilik dan lipofilik dari antioksidan (misalnya, β -karoten dan α - tokoferol) (Apak dkk., 2007).

EC₅₀ dari kapasitas CUPRAC adalah konsentrasi dari sampel atau standar yang dapat menunjukkan efektivitas 50% kapasitas CUPRAC. Semakin rendah nilai EC₅₀ maka akan memiliki kapasitas antioksidan paling tinggi. EC₅₀ kurang dari 50 ppm merupakan antioksidan yang sangat kuat, 50-100 ppm merupakan antioksidan kuat, 101-150 ppm merupakan antioksidan sedang, lebih dari 150 ppm antioksidan yang lemah (Fidrianny dkk., 2015).

II.4.3 ABTS

ABTS dihasilkan dengan mengoksidasi larutan kation ABTS dengan kalium persulfat. Pengujian diukur pada panjang gelombang 734 nm (Re dkk., 1999).

II.4.4 FRAF

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidan Power*) dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan

berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Halvorsen dkk., 2002).

II.4.5 Xantin Oksidase

Metode xantin oksidase adalah metode dengan prinsip metabolisme xantin-xantin oksidase, yang menghasilkan radikal anion superoksida. Superoksida dismutase (SOD) mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) sehingga metode ini dapat digunakan untuk mengukur antioksidan dalam meredam radikal anion superoksida (Praditasari, 2017).

II.4.6 Tiosianat

Metode ini menggunakan asam linoleat, yaitu asam lemak tak jenuh yang bertindak sebagai radikal bebas. Metode ini secara spesifik dapat mengukur jumlah radikal bebas berdasarkan peroksidasi lipid. Namun metode ini memerlukan pengukuran serapan yang lama (Praditasari, 2017).