

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAUN, BUAH DAN BIJI NAMNAM (*Cynometra cauliflora*)
DENGAN METODE DPPH SERTA PENETAPAN KADAR
FENOL TOTAL, FLAVONOID TOTAL DAN KAROTENOID**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**CAROLINA RIFLINA ADAK
13151007**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
PROGRAM STUDI STRATA I FARMASI
BANDUNG
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAUN, BUAH DAN BIJI NAMNAM (*Cynometra cauliflora*)
DENGAN METODE DPPH SERTA PENETAPAN KADAR
FENOL TOTAL, FLAVONOID TOTAL DAN KAROTENOID**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Kelulusan
Program Strata Satu

CAROLINA RIFLINA ADAK
13151007

Bandung, Agustus 2017
Menyetujui,

Pembimbing Utama



(Dadang Juanda, M.Si., Apt.)

Pembimbing Serta



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

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan 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.

*Dipersembahkan untuk yang terkasih almarhum Papa, juga untuk
Mama dan adik-adik terkasih Icha dan Joshua*

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN, BUAH DAN BIJI NAMNAM (*Cynometra cauliflora*) DENGAN METODE DPPH SERTA PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID TOTAL DAN KAROTENOID

Oleh :
Carolina Riflina Adak
13151007

Latar belakang: Radikal bebas dari lingkungan dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif. Antioksidan diperlukan untuk meredam radikal bebas tersebut. Satu diantara tanaman yang bisa digunakan sebagai antioksidan adalah namnam (*Cynometra cauliflora*). **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari daun, buah dan biji namnam (*Cynometra cauliflora*) dan kadar fenol total, flavonoid serta karotenoidnya. **Metode:** Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan etanol 96%. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Kadar fenol total ditentukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Kadar flavonoid total ditentukan dengan penambahan $AlCl_3$. Kadar karotenoid ditentukan secara spektrofotometri pada λ 470 nm. **Hasil:** Daun, buah dan biji namnam memiliki IC_{50} sebesar 16,09 $\mu g/mL$, 75,64 $\mu g/mL$ dan 13,15 $\mu g/mL$. Kadar fenol total daun, buah dan biji secara berturut-turut adalah 14,81, 11,97 dan 27,85 mgGAE/100mg ekstrak. Kadar flavonoid total daun, buah dan biji secara berturut-turut adalah 4,46, 0,931 dan 7,58 mgQE/100mg ekstrak. Kadar karotenoid total untuk daun, buah dan biji secara berturut-turut adalah 0,80, 1,63 dan 0,68 mgBE/100mg ekstrak. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun, buah dan biji namnam (*Cynometra cauliflora*) memiliki potensi sebagai antioksidan.

Kata kunci : Namnam, *Cynometra cauliflora*, antioksidan, DPPH, kadar fenol, flavonoid, karotenoid

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF NAMNAM (*Cynometra cauliflora*) LEAVES, FRUIT AND SEEDS BY DPPH METHOD AND DETERMINATION OF TOTAL PHENOL CONTENT, TOTAL FLAVONOIDS AND CAROTENOIDS

By :

Carolina Riflina Adak

13151007

Background: Free radicals from the environment can cause various degenerative diseases. Antioxidant is required to absorb that free radicals. One of the plant that can used as antioxidant is namnam (*Cynometra cauliflora*). **Purpose:** This study aims to determine the antioxidant activity of leaves, fruit and seeds of namnam and its total phenol content, total flavonoids and carotenoids. **Methods:** The extraction was done by maceration using ethanol 96%. The antioxidant activity test by free radical DPPH scavenging method. Total phenol content determined using the Folin-Ciocalteu reagent. Total flavonoids content were determined by the addition of $AlCl_3$. Total carotenoid content were determined by spectrophotometry at λ 470 nm. **Results:** The leaves, fruit and seeds of namnam have IC_{50} value of 16,09 μ g/mL, 75,64 μ g/mL and 13,15 μ g/mL. Total phenol content of leaves, fruit and seeds respectively are 14,81, 11,97, 27,85 mgGAE/100mg extract. Total flavonoid content of leaves, fruit and seeds respectively are 4,46, 0,931, 7,58 mgQE/100mg extract. Total carotenoid content of leaf, fruit and seeds respectively are 0,80, 1,63, 0,68 mgBE/100mg extract. **Conclusion:** Ethanol extract of leaves, fruit and seeds of namnam (*Cynometra cauliflora*) have potential antioxidant activity.

Keyword : Namnam, *Cynometra cauliflora*, Antioxidant, DPPH, Phenol content, Flavonoid, Carotenoid

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan karunia-Nya lah penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN, BUAH DAN BIJI NAMNAM (*Cynometra cauliflora*) DENGAN METODE DPPH SERTA PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID TOTAL DAN KAROTENOID” tepat pada waktu yang telah ditentukan.

Dalam penyusunan skripsi penulis mendapat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak. Dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terimakasih tak terhingga kepada yang terhormat :

1. Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung Bapak Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt
2. Bapak Dadang Juanda, M.Si., Apt dan Bapak Asep Roni, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran dan perhatiannya untuk memberikan masukan dan bimbingan dengan tulus kepada penulis selama penyusunan tugas akhir ini.
3. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama perkuliahan di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

4. Seluruh keluarga tercinta, teristimewa almarhum Papa untuk segalanya. Mama, Icha dan Joshua yang selalu memberikan dukungan, baik moril maupun material serta doa yang terus mengalir.
5. Randy dan teman-teman Ekstensi Angkatan 2015 yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun agar skripsi ini dapat menjadi lebih baik.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Batasan Masalah.....	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Tinjauan Botani.....	4
II.2 Radikal Bebas dan Antioksidan.....	7
II.3 Metode Pengujian Antioksidan.....	8
II.4 Flavonoid.....	10
II.5 Fenol.....	10
II.6 Karotenoid	12
BAB III METODE PENELITIAN.....	14
BAB IV ALAT DAN BAHAN.....	17
IV.1 Alat.....	17
IV.2 Bahan.....	17

BAB V PROSEDUR PENELITIAN.....	18
V.1 Persiapan Bahan.....	18
V.2 Karakterisasi Simplisia.....	19
V.3 Penapisan Fitokimia.....	22
V.4 Pembuatan Ekstrak.....	24
V.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....	25
V.6 Penetapan Kadar Fenol Total.....	26
V.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	27
V.8 Penetapan Kadar Karotenoid.....	27
BAB VI HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	29
VI.1 Penyiapan Bahan.....	29
VI.2 Karakterisasi Simplisia.....	30
VI.3 Penapisan Fitokimia.....	31
VI.4 Pembuatan Ekstrak.....	33
VI.5 Pemantauan Ekstrak.....	33
VI.6 Uji Aktivitas Antioksidan.....	35
VI.7 Penetapan Kadar Fenol Total.....	38
VI. 8 Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	41
VI.9 Penetapan Kadar Karotenoid.....	42
VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
VII.1 Kesimpulan.....	44
VII.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Tanaman Namnam (<i>Cynometra cauliflora</i>).....	5
Gambar II.2 Mekanisme pemberian elektron oleh antioksidan...	9
Gambar II.3 Struktur senyawa flavonoid.....	10
Gambar II.4 Struktur senyawa fenol.....	11
Gambar II.5 Struktur senyawa betakaroten.....	12
Gambar VI.1 Kromatogram lapis tipis ekstrak.....	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel VI.1 Hasil Karakterisasi Simplisia.....	28
Tabel VI.2 Hasil Penapisan Fitokimia.....	30
Tabel VI.3 Ekstraksi dan Rendemen Ekstrak.....	31
Tabel VI.4 Kurva Kalibrasi Standar DPPH.....	34
Tabel VI.6 IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan	36
Tabel VI.7 Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat.....	37
Tabel VI.8 Kadar Fenol Total.....	38
Tabel VI.9 Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin.....	39
Tabel VI.10 Kadar Flavonoid Total.....	40
Tabel VI.11 Kurva Kalibrasi Standar Betakaroten.....	41
Tabel VI.12 Absorbansi dan Kadar Karotenoid Total.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN I ALUR KERJA PENELITIAN.....	48
LAMPIRAN II DETERMINASI.....	49
LAMPIRAN III PERHITUNGAN KADAR ABU TOTAL.....	50
LAMPIRAN IV PERHITUNGAN KADAR SARI LARUT ETANOL	52
LAMPIRAN V PERHITUNGAN KADAR SARI LARUT AIR.....	55
LAMPIRAN VI KURVA PENGUJIAN ANTIOKSIDAN VIT. C.....	58
LAMPIRAN VII IC ₅₀ DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN.....	59
LAMPIRAN VIII PERHITUNGAN KADAR FENOLTOTAL.....	62
LAMPIRAN IX PERHITUNGAN KADAR FLAVONOID TOTAL..	65
LAMPIRAN X PERHITUNGAN KADAR KAROTENOID TOTAL	68

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Radikal bebas atau oksidan adalah suatu molekul atau atom atau senyawa yang mempunyai 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. Radikal bebas umumnya berasal dari polusi, pestisida, radiasi, asap rokok, sinar matahari dan asap kendaraan. Akumulasi radikal bebas dari lingkungan akhirnya menimbulkan kerusakan di dalam tubuh dan dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif serta tanda-tanda penuaan (Rohmatussolihat, 2009). Timbulnya penyakit degeneratif oleh radikal bebas dapat dihambat ataupun dicegah oleh senyawa antioksidan.

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk sintetis dan alami. Akan tetapi kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetis menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif pilihan.

Tumbuhan merupakan antioksidan alami dan umumnya memiliki senyawa fenolik yang tersebar pada bagian tumbuhan

baik pada kayu, biji, daun, buah, akar, bunga maupun serbuk sari (Sunarni, Pramono & Asmah, 2007).

Penggunaan tumbuhan, baik sebagai obat, bahan makanan, bumbu, kosmetik, maupun sebagai bahan ramuan untuk upacara ritual keagamaan telah dikenal sejak jaman kuno. Dengan kemajuan peradaban modern, yang ditandai dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang lebih cenderung menggunakan produk artifisial, pemanfaatan produk yang berasal dari tumbuhan sempat mengalami kemunduran beberapa saat. Akan tetapi situasi ini berubah secara global 20 tahun terakhir yang mengarah ke perubahan penggunaan bahan alam (Wiryowidagdo, 2000).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki sumber daya alam hayati yang sangat beraneka ragam. Satu diantara tanaman yang biasa digunakan sebagai pengobatan tradisional adalah namnam (*Cynometra cauliflora*). Namnam adalah nama sejenis pohon berbuah dari suku polong-polongan (Leguminosae atau Fabaceae). Namnam dilaporkan sebagai penghasil senyawa fenolik yang tersubstitusi gugus hidroksil khususnya golongan oligostilbenoid. Senyawa oligostilbenoid tersebut telah dilaporkan mempunyai beberapa keaktifan biologis yang sangat menarik seperti antioksidan, antibakteri dan antifungi (Kristanti, *et al*, 2006).

Telah dilaporkan sebelumnya bahwa beberapa bagian tanaman namnam memiliki aktivitas antioksidan. Bagian tanaman

tersebut adalah daun muda dengan IC₅₀ 66,36 µg/mL, daun tua 72 µg/mL, tangkai 140 µg/mL dan kulit kayu 258,98 µg/mL (Azalina Farina Abd Aziz, 2013).

1.2 Batasan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan dari daun, buah dan biji namnam (*Cynometra cauliflora*) dengan menggunakan metode peredaman radikal DPPH serta penetapan kadar fenol total, flavonoid total dan karotenoid secara spektrofotometri.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total, flavonoid total dan karotenoid dari daun, buah dan biji namnam (*Cynometra cauliflora*).

1.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Fitokimia Sekolah Tinggi Farmasi Bandung dari bulan Februari sampai bulan Mei 2017.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Botani

Tinjauan pustaka mengenai botani meliputi klasifikasi, nama daerah, morfologi tanaman, serta penyebaran dan budidaya.

II.1.1 Klasifikasi Tanaman Namnam

Tanaman namnam diklasifikasikan sebagai berikut (Hermanto, 2013):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Bangsa	: Detariae
Genus	: <i>Cynometra</i>
Spesies	: <i>Cynometra cauliflora</i>

II.1.2 Nama Lain

Cynometra cauliflora umumnya dikenal dengan nama namnam. Namnam juga dikenal di beberapa negara dengan nama Katakpuru di Malaysia, Hima di Thailand dan Kopi Anjing di Indonesia (Azalina, *et al*, 2013). Di beberapa daerah lain di Indonesia, namnam memiliki nama yang berbeda seperti di daerah Ternate dikenal dengan nama namo-namo, di Manado dikenal dengan nama namu-namu, Bima dikenal dengan nama puci anggi, Sumatera dengan nama anjing-anjing, Sulawesi

dengan nama *puti anjeng* (Makassar), *Arepa* (Bugis) serta daerah Jawa dikenal dengan nama *kapi anjing*.

II.1.3 Morfologi Tanaman

Perdu atau pohon kecil, tinggi antara 3-15 m. Batang berbonggol-bonggol, dengan kulit batang yang halus berbintil, kecoklatan atau abu-abu. Bertajuk agak rapat, dengan ranting yang berkelak-kelok zigzag. Daun majemuk dengan sepasang anak daun, bertangkai 2-8 mm. Anak daun lonjong sampai bulat telur miring tidak simetris. 5,5-16,5 x 1,5-5,5 cm, hampir tak bertangkai seperti jangat, menggantung, hijau tua, berkilap. Daun muda berwarna putih atau merah jambu terang, menggantung lemas serupa sapu tangan (Hermanto, 2013) .



(a)

(b)

(c)

Gambar II. 1: Tanaman namnam (*Cynometra cauliflora*), daun (a), buah (b), biji (c)

Buah dari *Cynometra cauliflora* ini bentuknya menyerupai ginjal dan kulit buahnya sangat kasar. Buah yang belum matang akan memberikan rasa yang asam. Buahnya akan berwarna kuning kecoklatan ketika telah matang (Azalina, *et al*, 2013).

Buah yang masak berasa asam manis dan segar dan dapat dimakan langsung atau sebagai bahan rujak, manisan maupun campuran sambal (Hyne, 1987). Karangan bunga berupa tandan kecil dengan deretan daun pelindung, 4-5 tandan berjejal pada tonjolan-tonjolan yang muncul di batang, hingga dekat ke tanah. Bunga kecil-kecil, kelopaknya berwarna merah jambu pucat atau putih berbagi dalam menjadi 4, panjang taju kelopak 2-4 mm, mahkota bentuk lanset, putih, 5 helai panjang 3-4 mm. Benang sari lepas-lepas, 8-11 helai, tangkai putik 5-6 mm (Hermanto, 2013).

II.1.4 Penyebaran dan Budidaya

Tanaman namnam asal usulnya tidak begitu jelas, namun diperkirakan dari wilayah Malaysia Timur. Namnam diketahui ditanam oleh orang di India, Asia Tenggara dan kepulauan Nusantara. Namnam tumbuh baik di dataran rendah tropik basah. Pengalaman di India menunjukkan namnam berbuah lebih lebat di daerah beriklim muson pada musim kemarau yang tegas. Tanaman memerlukan sinar matahari penuh, tetapi toleran terhadap naungan, tumbuh baik pada daerah dengan curah hujan 1.500-2.000 mm/tahun dan suhu 22-35°C (Hermanto, 2013).

II.1.5 Kandungan Kimia

Senyawa yang terdapat dalam tanaman namnam terdiri dari fenolik, flavonoid, steroid/triterpenoid, saponin, tanin, kuinon dan obligostilbenoid (Sumarlin, *et al*, 2012).

II.1.6 Penggunaan Tradisional dan Efek Farmakologi

Tanaman namnam secara tradisional digunakan untuk memperlancar air mani, mengobati penyakit kencing batu, memperlancar buang air besar, menguruskan tubuh, penawar darah tinggi serta kencing manis.

Efek farmakologi yang telah diketahui dari tanaman namnam yaitu sebagai antibakteri, antihepatotoksik dan antifungi (Dede Sukandar, 2013)

II.2 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas atau oksidan adalah suatu molekul atau atom atau senyawa yang mempunyai 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. Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autoksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transfer elektron di mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh, misalnya sinar UV.

Terbentuknya radikal bebas melalui beberapa proses yaitu pembentukam awal radikal bebas (inisiasi), perambatan atau pembentukan radikal baru (propagasi), dan pemusnahan atau pengubahan senyawa radikal menjadi non radikal (terminasi).

Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan seperti membunuh bakteri, mengurangi peradangan, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh, tetapi dalam jumlah berlebih mengakibatkan stres oksidatif pada sel, jaringan hingga organ (Rohmatussolihat, 2009).

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh (Rohmatussolihat, 2009).

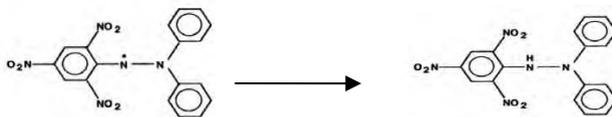
II.3 Metode Pengujian Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya ABTS (*Radical Cation Decolorization*), CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*), DPPH (*1,1 difenil-2-pikrihidrazil*), dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode FRAP menggunakan Fe (TPTZ)₂³⁺ kompleks besi ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi Metode CUPRAC menggunakan bis (neokuproin) tembaga (II) (Cu(Nc)₂²⁺) sebagai pereaksi kromogenik (Widyastuti, 2010). Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode DPPH (*1,1 difenil-2-pikrihidrazil*).

Metode DPPH menggunakan 1,1 difenil-2-pikrihidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan. DPPH merupakan

radikal stabil yang digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas pada beberapa komponen alam seperti senyawa fenolat, antosianin maupun dalam ekstrak kasar. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH (dalam metanol) berwarna ungu tua dimana senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi, ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu (menjadi kuning pucat). Intensitas perubahan warna ini kemudian diukur pada spektrum absorpsi antara 515-520 nm pada larutan organik (metanol atau etanol). Antioksidan akan mendonorkan proton atau hidrogen kepada DPPH dan selanjutnya akan membentuk radikal baru yang bersifat stabil atau tidak reaktif (Molyneux, 2004).

Reaksinya digambarkan sebagai berikut :



1 : radikal bebas

2 : non radikal

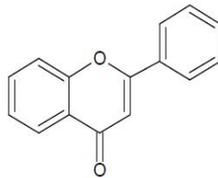
Gambar II. 2 : Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan

Dalam metode DPPH terdapat parameter IC_{50} yang merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh

melalui persamaan regresi. Semakin kecil IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Molyneux, 2004)

II.4 Flavonoid

Senyawa flavonoid ialah polifenol yang menjadi 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988).

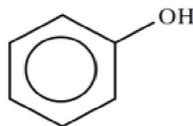


Gambar II. 3 : Struktur senyawa flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dapat diekstraksi dengan etanol 70% tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau ammonia, jadi mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Markham, 1988).

II. 5 Fenol

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenol mudah larut dalam air karena umumnya sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987).



Gambar II. 4 : Struktur senyawa fenol (Harborne J.B., 1978)

Semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV. Selain itu secara khas senyawa fenol menunjukkan pergeseran batokrom pada spektrumnya bila ditambahkan basa. Karena itu, cara spektrofotometri penting, terutama untuk identifikasi dan analisis kuantitatif senyawa fenol (Harborne, 1987).

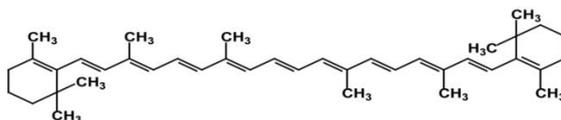
Untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana ialah dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam air atau etanol kepada larutan cuplikan yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Cara ini yang dimodifikasi dengan menggunakan campuran segar larutan FeCl_3 1% dalam air dan kalium heksasianaferat (III) 1% masih tetap digunakan sebagai cara umum untuk mendeteksi senyawa

fenol (terutama flavonoid) dapat dideteksi pada kromatogram berdasarkan warnanya atau fluoresensinya di bawah lampu UV, warnanya diperkuat atau berubah bila diuapi ammonia. Pigmen fenolik berwarna dan warnanya ini dapat terlihat jadi mudah dipantau selama proses isolasi dan pemurnian (Harborne J.B., 1987).

Penentuan kandungan fenolik total dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Metode ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolik. Semua senyawa fenolik termasuk fenol sederhana dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu, walaupun bukan penangkap radikal (antiradikal) efektif. Kandungan fenolik total dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE (*Galic Acid Equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan miligram asam galat dalam 1 gram sampel (Pratimasari, 2009).

II. 6 Karotenoid

Betakaroten sebagai provitamin A merupakan unsur sangat potensial dan penting bagi vitamin A, karena betakaroten merupakan sumber vitamin A maka ketersediaan karoten perlu diketahui (De Man, 1997).



Gambar II. 5 : Struktur senyawa betakaroten

Karotenoid merupakan tetraterpenoid, merupakan golongan pigmen yang larut lemak dan tersebar luas, terdapat pada hampir semua jenis tumbuhan, mulai dari bakteri sederhana sampai komposit yang berbunga kuning. Pada tumbuhan, karotenoid mempunyai dua fungsi yaitu sebagai pigmen pembantu dalam fotosintesis dan sebagai pewarna dalam bunga dan buah (Harborne, 1987) . Karotenoid berfungsi sebagai prekursor vitamin A dan antioksidan.