

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN DAN RIMPANG
TANAMAN GANDASULI (*Hedychium coronarium* J. Koenig)
DENGAN METODE PEREDAMAN DPPH**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**SITI HALIMATUSSA'DIAH
13151035**



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

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN DAN RIMPANG
TANAMAN GANDASULI (*Hedychium coronarium* J. Koenig)
DENGAN METODE PEREDAMAN DPPH**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Persyaratan Kelulusan
Program Strata Satu

**SITI HALIMATUSSA'DIAH
13151035**

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,

Aris Suhardiman, M.Si., Apt.

R. Herni Kusriani, 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.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada kedua orang tua, adik-adik, sahabat, dan semua yang kusayangi

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN DAN RIMPANG TANAMAN GANDASULI (*Hedychium coronarium* J. Koenig) DENGAN METODE PEREDAMAN DPPH

oleh
Siti Halimatussa'diah
13141035

Gandasuli merupakan salah satu tanaman dari family Zingiberaceae yang memiliki banyak manfaat. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan ekstrak gandasuli memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan pada ekstrak dan fraksi dari daun dan rimpang tanaman gandasuli. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 70%, sedangkan fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis dan kuantitatif dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (1-1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan pembanding asam askorbat. Hasil pengujian menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak daun gandasuli, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol-air secara berurutan yaitu 212,49; 567,295; 220,069; 232,508 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan pada rimpang gandasuli nilai IC_{50} ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan metanol-air adalah 296,962; 208,669; 313,023; 904,677 $\mu\text{g/mL}$. **Kesimpulan:** Senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada daun gandasuli adalah senyawa fenol sedangkan pada rimpangnya adalah senyawa golongan minyak atsiri, flavonoid, dan fenol

Kata kunci : Antioksidan, Gandasuli, *Hedychium coronarium*, IC_{50} , DPPH

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM LEAF AND RHIZOME OF GANDASULI (*Hedychium coronarium* J. Koenig) WITH DPPH METHOD

by
Siti Halimatussa'diah
13151035

Gandasuli is one of the plants from Zingiberaceae family that has many benefits. From several studies that showed gandasuli extract has antioxidant activity and potential as a source of natural antioxidants. This study aimed to examine the antioxidant activity in the extract and fraction of the leaves and rhizome of gandasuli plant. The method of extraction was done by maceration with ethanol 70% as eluent, while fractionation was done by using liquid-liquid extraction method with n-hexane and ethyl acetate as a solvent. The antioxidant activity test was performed qualitatively with thin layer chromatography method (TLC) and quantitative using DPPH (1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free-radical scavenging method with ascorbic acid as a standard. The result showed that IC_{50} extract of gandasuli leaf, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and the metanol-water fractions sequentially 212.49; 567,295; 220,069; 232,508 $\mu\text{g} / \text{mL}$. While the IC_{50} extract of gandasuli rhizome, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and metanol-water fraction sequentially 296.962; 208,669; 313,023; 904.677 $\mu\text{g}/\text{mL}$. **Conclusion:** The active compound of gandasuli leaves was suggested phenol compounds and on rhizome were essential oil, flavonoid, and phenol compounds.

Keywords: Antioxidant, Gandasuli, *Hedychium coronarium*, IC_{50} , DPPH

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Laporan Tugas Akhir yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Daun dan Rimpang Gandasuli (*Hedychium coronarium* J. Koenig) dengan Metode Peredaman DPPH” ini tepat pada waktunya.

Penyusunan Laporan Tugas Akhir ini merupakan salah satu syarat untuk dapat memperoleh gelar Strata Satu Farmasi pada Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Dalam penulisan Laporan Tugas Akhir ini tak mungkin terwujud tanpa adanya dorongan, bimbingan, semangat, motivasi serta bantuan baik moril maupun materil, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis pada kesempatan ini mengucapkan terima kasih kepada :

1. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt., selaku ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung
2. Ari Yuniarto, M.Si., Apt., selaku ketua program studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
3. Aris Suhardiman , M.Si., Apt., selaku pembimbing utama tugas akhir atas segala bimbingan, ketulusan, kesabaran dan keikhlasannya dalam memberikan arahan, pengertian, dan saran.
4. R. Herni Kusriani, M.Si., Apt., selaku pembimbing serta tugas akhir atas segala bimbingan, ketulusan, kesabaran dan keikhlasannya dalam memberikan arahan, pengertian, dan saran.
5. Bapak dan Ibu Dosen Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang telah banyak memberikan ilmu dan pengetahuan.

6. Kedua orang tua serta keluarga yang telah memberikan segala dukungan, doa, dan cinta kasih yang tiada henti.
7. Rekan-rekan mahasiswa dan semua pihak yang ikut membantu dan mendukung penulis selama ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan Laporan Tugas Akhir ini. Untuk itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun dari semua pihak. Penulis berharap semoga Laporan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan dapat menjadi bekal bagi penulis dalam pengabdian Strata Satu Farmasi di masyarakat pada khususnya.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
Bab I Pendahuluan	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Batasan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Manfaat Penelitian	3
I.5 Waktu Penelitian	3
Bab II Tinjauan Pustaka	4
II.1 Tanaman Botani Gandasuli	4
II.2 Radikal Bebas dan Antioksidan	6
II.3 Uji Aktivitas Antioksidan	9
II.4 Ekstraksi	11
II.5 Fraksinasi	13
Bab III Metodologi Penelitian	14
Bab IV Alat dan Bahan	16
IV.1 Alat	16
IV.2 Bahan	16
Bab V Prosedur Kerja	17
V.1 Penyiapan Bahan	17

V.2	Karakterisasi Simplisia	17
V.3	Skrining Fitokimia	21
V.4	Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi	23
V.5	Uji Aktivitas Antioksidan	23
	Bab VI Hasil dan Pembahasan	27
VI.1	Penyiapan Bahan	27
VI.2	Karakterisasi Simplisia	27
VI.3	Skrining Fitokimia	30
VI.4	Ekstraksi	32
VI.5	Fraksinasi.....	33
VI.6	Pengujian Aktivitas Antioksidan	34
	Bab VII Kesimpulan dan Saran	49
VII.1	Kesimpulan	49
VII.2	Saran	49
	DAFTAR PUSTAKA.....	50
	LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel II. 1 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH.....	11
Tabel IV.5 Kurva Kalibrasi Baku DPPH	54
Tabel VI.1 Hasil Karakterisasi Simplisia	29
Tabel VI.2 Hasil Penapisan Fitokimia	31
Tabel VI.3 Hasil Rendemen Ekstrak	33
Tabel VI.4 Hasil Rendemen Fraksi	34
Tabel VI.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Baku Standar Vitamin C.....	45
Tabel VI.6 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Sampel	46
Tabel VI.7 Persen Inhibisi Ekstrak Daun Gandasuli.....	56
Tabel VI.8 Persen Inhibisi Fraksi N Heksana Daun Gandasuli	57
Tabel VI.9 Persen Inhibisi Fraksi Etil Asetat Daun Gandasuli	58
Tabel VI.10 Persen Inhibisi Fraksi Metanol-air Daun Gandasuli	59
Tabel VI.11 Persen Inhibisi Ekstrak Rimpang Gandasuli...	60
Tabel VI.12 Persen Inhibisi Fraksi N Heksana Rimpang Gandasuli	61
Tabel VI.13 Persen Inhibisi Fraksi Etil Asetat Rimpang Gandasuli	62
Tabel VI.14 Persen Inhibisi Fraksi Metanol-air Rimpang Gandasuli	63

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1	Morfologi Tanaman Gandasuli..... 4
Gambar II.2	Reaksi antara DPPH dengan Antioksidan ... 11
Gambar III.1	Bagan Alir Prosedur Penelitian..... 52
Gambar VI.1	Hasil Determinasi Tanaman Gandasuli 53
Gambar VI.2	Makroskopik Daun dan Rimpang Gandasuli..... 28
Gambar VI.3	Kromatogram lapis tipis ekstrak dan Fraksi Daun Gandasuli dengan Eluen N heksana Etil Asetat..... 36
Gambar VI.4	Kromatogram lapis tipis ekstrak dan Fraksi Daun Gandasuli dengan Eluen Kloroform-Metanol 37
Gambar VI.5	Kromatogram lapis tipis ekstrak dan Fraksi Daun Gandasuli dengan Eluen Etil asetat, asam format, Air 38
Gambar VI.6	Kromatogram lapis tipis Ekstrak dan Fraksi Rimpang Gandasuli dengan Eluen N heksana -Etil Asetat..... 40
Gambar VI.7	Kromatogram lapis tipis ekstrak dan Fraksi Rimpang Gandasuli Eluen Kloroform-Metanol 41
Gambar VI.8	Kromatogram lapis tipis ekstrak dan Fraksi Rimpang Gandasuli Eluen Etil asetat, Asama format, Air..... 42
Gambar VI.9	Hasil Penentuan Linieritas DPPH..... 54
Gambar VI.10	Grafik Linieritas Kurva Kalibrasi Baku Standar 55
Gambar VI.11	Grafik Linieritas Ekstrak Daun Gandasuli .. 56

Gambar VI.12	Grafik Linieritas Fraksi N heksana Daun Gandasuli.....	57
Gambar VI.13	Grafik Linieritas Fraksi Etil Asetat Daun Gandasuli.....	58
Gambar VI.14	Grafik Linieritas Fraksi Metanol-air Daun Gandasuli.....	59
Gambar VI.15	Grafik Linieritas Ekstrak Rimpang Gandasuli.....	60
Gambar VI.16	Grafik Linieritas Fraksi N Heksana Rimpang Gandasuli	61
Gambar VI.17	Grafik Linieritas Fraksi Etil Asetat Rimpang Gandasuli	62
Gambar VI.18	Grafik Linieritas Fraksi Metanol-air Daun Gandasuli.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	HASIL DETERMINASI	52
Lampiran 2	BAGAN ALIR PROSEDUR PENELITIAN.	53
Lampiran 3	KURVA KALIBRASI DPPH	54
Lampiran 4	KURVA KALIBRASI BAKU STANDAR...	55
Lampiran 5	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN GANDASULI.....	56
Lampiran 6	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N HEKSANA DAUN GANDASULI	57
Lampiran 7	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN GANDASULI	58
Lampiran 8	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI METANOL-AIR DAUN GANDASULI	59
Lampiran 9	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RIMPANG GANDASULI	60
Lampiran 10	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N HEKSANA RIMPANG GANDASULI	61
Lampiran 11	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG GANDASULI ..	62
Lampiran 12	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI METANOL-AIR RIMPANG GANDASULI	63

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Salah satu permasalahan yang banyak dialami masyarakat adalah timbulnya berbagai penyakit yang disebabkan oleh paparan radikal bebas. Radikal bebas merupakan satu atau sekumpulan atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada bagian atom terluarnya. Radikal bebas (*Reactive oxygen species*) diproduksi secara kontinyu oleh tubuh manusia sebagai akibat dari proses metabolisme. (Pribadi, 2009). Paparan radikal bebas selain bersumber dari sisa metabolisme dalam tubuh juga dapat berasal dari berbagai sumber seperti asap rokok, polusi udara dan lain-lain. Banyaknya sumber paparan radikal bebas menyebabkan jumlah radikal bebas yang berlebih dalam tubuh sehingga menimbulkan terjadinya stres oksidatif.

Stres oksidatif merupakan suatu keadaan ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan yang ada. Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel serta jaringan dan merupakan dasar patogenesis bagi proses penyakit kardiovaskuler, keganasan, gangguan metabolik dan penuaan (Yoshikawa dan Yuji, 2002). Radikal bebas dalam tubuh dapat diredam dengan adanya antioksidan.

Antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi radikal bebas atau menetralkan radikal bebas yang menjadi penyebab kerusakan berbagai organ dan jaringan dalam tubuh. Senyawa antioksidan diperlukan tubuh untuk mengurangi resiko timbulnya berbagai penyakit karena paparan radikal bebas. Secara alami antioksidan

sudah terdapat di dalam tubuh, tetapi jumlah radikal bebas yang terlalu banyak menyebabkan tubuh membutuhkan antioksidan dari luar, salah satunya dari bahan alam. Penggunaan senyawa antioksidan dari bahan alam dianggap lebih aman dibandingkan antioksidan sintetik karena resiko timbulnya karsinogenik rendah. (Shebis *et.al* 2013). Tanaman gandasuli (*Hedychium coronarium* J. Koenig) merupakan salah satu tanaman yang termasuk famili Zingiberaceae yang memiliki banyak manfaat. Akan tetapi, belum banyak masyarakat Indonesia yang mengetahui khasiat tumbuhan tersebut.

Tumbuhan gandasuli bermanfaat sebagai obat antiinflamasi dan anti bakteri (Tailor dan Goyal, 2015). Oleh masyarakat, Bunga *Hedychium coronarium* berkhasiat sebagai peluruh haid, obat bengkak, obat radang tenggorokan dan sebagai bahan baku kosmetika. Rimpangnya berkhasiat sebagai obat rematik, sakit kepala, pilek dan influenza. Kandungan metabolit sekunder pada gandasuli diantaranya flavonoid, fenol, tannin, steroid, terpenoid, saponin, glikosida, dan minyak atsiri (Singh *et.al*, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh (Ching Ho, 2011) menunjukkan adanya aktivitas larvasidal terhadap nyamuk *Aedes aegypti* (L.). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun dan rimpang gandasuli yang dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH.

I.2 Batasan Masalah

Penelitian ini hanya dibatasi pada pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi rimpang dan daun gandasuli menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari daun dan rimpang tumbuhan gandasuli (*Hedychium coronarium* J. Koenig)
2. Untuk mengetahui golongan senyawa yang aktif sebagai antioksidan dari daun dan rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium* J. Koenig).

I.4 Manfaat Penelitian

Adapun kegunaan dari penelitian ini adalah dapat membantu meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomis dari tumbuhan gandasuli, dapat dijadikan sebagai sumber referensi untuk penelitian selanjutnya, serta memberikan wawasan kepada masyarakat.

I.5 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan Januari- Juni 2017 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Sekolah Tinggi Farmasi Bandung Jl. Raya Soekarno Hatta No. 754 Cibiru Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Tinjauan Botani Gandasuli

Tinjauan tentang botani tanaman meliputi:

II.1.1 Morfologi dan Taksonomi Tanaman



(a)

(b)

(c)

Gambar II.1: Morfologi Tanaman Gandasuli (a) daun, (b) bunga; (c) rimpang

Herba tanaman gandasuli ini memiliki tinggi pohon hingga 3 – 6 m, permukaan batang berbentuk bulat, tidak bercabang, terbungkus pelepah daun dan berwarna hijau. Daun tunggal, berseling, berpelepah dan berbentuk lanset dengan ujung runcing dengan pangkal tumpul, memiliki panjang daun 20 – 30 cm dan lebar 3 – 10 cm. Bunga majemuk, di ujung batang, berbau harum, kelopak hijau, kerucut, terdiri dua daun kelopak, mahkota bentuk kupu-kupu, daun mahkota empat, benang sari putih, berlekatan, putik panjang \pm 5 cm, putih kekuningan, putih. Akar serabut berwarna kuning.

Klasifikasi dan taksonomi tanaman gandasuli adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Monokotiledoneae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : *Hedychium*
Spesies : *Hedychium coronarium* J. Koenig (Tailor dan Goyal, 2015)

Dibeberapa daerah tanaman gandasuli dikenal dengan nama Gondosuli (Jawa Tengah), Gandasuli (Sunda), Mandasuling (Bali), Dagasuli (Halmahera). Sedangkan dibeberapa negara dikenal dengan nama Dolan champa (Hindi), Suruli sugandhi (Kannada), Butterfly lily (Inggris), dan Guajiro (Spanyol). (Tailor dan Goyal, 2015).

II.1.2 Kandungan Tanaman

Ekstrak air dari daun gandasuli mengandung karbohidrat, protein, flavonoid, fenol, tannin, steroid and terpenoid, saponin, glikosida, dan minyak atsiri (Singh dan Bag, 2013. Komponen senyawa utama dari minyak rimpang gandasuli adalah 1,8-cineole (37,3%), β -pinene (23,0%), α -terpineol (10,4%) dan α -pinene (9,9%). (Ching Ho, 2011). Ekstrak metanol dari rimpang gandasuli memiliki kandungan senyawa karbohidrat, alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid. (Ranjan, 2015)

II.1.3 Khasiat Tanaman

Bunga *Hedychium coronarium* berkhasiat sebagai peluruh haid, obat bengkak, obat radang tenggorokan dan sebagai bahan baku kosmetika. Rimpangnya berkhasiat sebagai obat rematik, sakit kepala, pilek dan influenza (Hariana, 2013). Studi farmakologi dari tanaman ini dilaporkan adanya aktivitas analgesik anti-inflamasi hewan percobaan. (Seikou *et al*, 2008 dalam Y Lu *et al*, 2009). Selain itu, ekstrak rimpang gandasuli memiliki aktivitas sitotoksik (Ranjan, 2015), dan antinyamuk serta aktivitas antioksidan (Ching Ho, 2011).

II.2 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan atom atau molekul elektron yang tidak berpasangan sehingga mengakibatkan sifatnya sangat tidak stabil. Hal ini karena radikal bebas mempunyai satu elektron atau lebih yang tidak berpasangan pada kulit luar. Elektron pada radikal bebas sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat, atau asam deoksiribonukleat (DNA) sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi sel. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh, maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru. Reaksi ini dapat berakhir jika ada molekul yang memberikan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas tersebut atau dua buah gugus radikal bebas membentuk ikatan non-radikal. (Robert, 2008).

Radikal ini dapat berasal dari atom hidrogen, molekul oksigen atau ion logam transisi. Senyawa radikal bebas bersifat sangat reaktif dan akan selalu berusaha mencapai kestabilan dengan mencari pasangan

elektron. Seiring waktu, semakin bertambahnya jumlah radikal bebas dalam tubuh selama proses metabolisme normal menjadi penyebab kerusakan fungsi sel-sel tubuh dan memicu munculnya penyakit degeneratif.

Radikal bebas dapat bersumber dari dalam dan luar tubuh. Sumber dari dalam tubuh, yaitu: proses oksidasi yang berlebihan, proses olahraga yang berlebihan, proses peradangan akibat menderita sakit kronik atau kanker dan stres berat. Sumber dari luar tubuh yaitu : asap rokok, udara atau lingkungan yang tercemar, radiasi matahari atau kosmis

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat mendonorkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga bisa stabil. Secara umum, antioksidan dapat mengurangi kecepatan proses inisiasi pada reaksi berantai pembentukan radikal bebas dalam konsentrasi yang sangat kecil, yaitu 0,01% atau kurang (Madhavi *et al.*, 1995 dalam Syaifuddin 2015). Senyawa antioksidan secara umum dapat dibagi menjadi: antioksidan alami dan antioksidan sintetik.

Antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok, berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu:

a. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis yaitu suatu senyawa yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH-PX), dan glutathion reduktase (GSH-R). Enzim

tersebut bekerja dengan cara melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas oksigen seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH), dan hidrogen peroksida (H_2O_2).

b. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan non-enzimatis. Antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, vitamin E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, dan isokatekin. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

c. Antioksidan Tersier

Kelompok meliputi sistem enzim *DNA-Repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *Single* dan *Double strand* baik gugus non-basa maupun basa. (Winarsi, 2007).

II.3 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji antioksidan merupakan uji yang dilakukan untuk menentukan tingkat aktivitas suatu bahan terhadap radikal bebas. Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif.

II.3.1 Uji kualitatif

Uji kualitatif aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Prinsip kromatografi lapis tipis yaitu memisahkan komponen-komponen campuran atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa, sehingga nilai R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Selama pemisahan dalam sistem kromatografi terjadi proses sorpsi dan desorpsi. Sorpsi merupakan proses pemindahan solut dari fase gerak ke fase diam, sementara desorpsi merupakan proses sebaliknya. Ada 4 jenis mekanisme sorpsi dasar yaitu adsorpsi, partisi, pertukaran ion, dan eksklusi ukuran. Pada sistem kromatografi lapis tipis mekanisme yang terjadi yaitu adsorpsi (Gandjar dan Rohman, 2007). Fase diam yang sering digunakan adalah silika gel (Na_2SiO_3). (Karunawati, 2013).

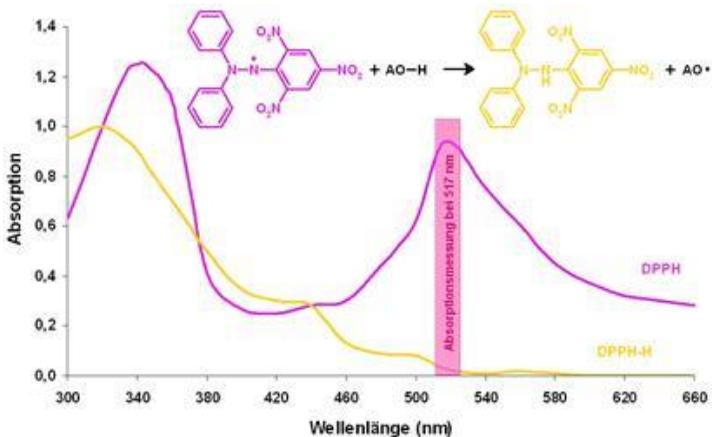
II.3.2 Uji Kuantitatif

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dengan pembanding vitamin C. Spektrofotometer (UV-Vis) didasarkan atas absorban sinar tampak oleh suatu larutan berwarna. Adanya serapan cahaya menyebabkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. (Ganjhar dan Rohman, 2007). Metode spektrofotometer memiliki kelebihan, yaitu metode spektrofotometer digunakan secara luas untuk mengidentifikasi dan

menganalisis struktur materi organik. Ketepatan relatif alat ini sebesar 0,5-5% (Syarifuddin, 2015).

Perendaman dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) merupakan metode yang mudah, cepat, dan murah untuk menetapkan kapasitas antioksidan. DPPH adalah komponen yang berwarna ungu yang tidak berdimerisasi dan berbentuk kristalin. Dalam metode ini, DPPH akan mentransfer elektron atau atom hidrogen ke radikal bebas sehingga menyebabkan karakter radikal bebas ternetralisasi (Molineux, 2004).

Reaksi yang terjadi antara DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada gambar II.2.



Gambar II.2: Reaksi antara DPPH• dengan Antioksidan membentuk DPPH-H; Sumber: (google image; Witt, Lalk, Hager, dan Voigt, 2010)

Menurut (Miksusanti *et al*, 2012) tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut nilai IC_{50} berdasarkan table dibawah ini:

Tabel II.1 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 $\mu\text{g/mL}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/mL}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g/mL}$
Lemah	> 150 $\mu\text{g/mL}$

II.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang dilakukan untuk mengambil zat-zat yang terkandung dalam suatu bahan atau campuran dengan menggunakan pelarut yang cocok. Metode ekstraksi berdasarkan suhunya dapat dibagi menjadi metode ekstraksi dengan cara dingin dan metode ekstraksi panas.

Metode ekstraksi dengan cara dingin contohnya adalah maserasi dan perkolasi. Prinsip kerja dari metode maserasi adalah dengan melakukan perendaman simplisia yang akan diekstraksi dengan sejumlah pelarut yang cocok. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam cairan penyari karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dalam sel dengan di luar sel yang menyebabkan zat aktif ditarik ke luar sel. Proses tersebut akan terus terjadi sampai diperoleh keseimbangan larutan di dalam dan luar sel. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan mencampur 10 bagian simplisia dengan 75 bagian cairan penyari

yang cocok dalam bejana lalu ditutup dan dibiarkan selama 1-5 hari terlindung dari cahaya. Pada prosesnya diperlukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan. Selanjutnya, dilakukan penyerkaian dan pemerasan ampas. Hal tersebut dilakukan berulang sampai diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Sedangkan perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan.

Ekstraksi dengan cara panas dapat dilakukan dengan refluks atau sokletasi. Panas dapat menjadi salah satu katalisator yang akan mempercepat proses ekstraksi. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna. Sedangkan soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infuse tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit). Dekok adalah infuse pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air. (Ansel,1989)

II.4 ECC (Ekstraksi Cair-Cair)

Metode ekstraksi cair-cair dilakukan menggunakan media corong pisah. Corong pisah merupakan peralatan laboratorium yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam

campuran antara dua fase pelarut yang memiliki massa jenis berbeda yang tidak tercampur (Haznawati 2012). Pelarut yang memiliki massa jenis lebih tinggi akan berada di lapisan bawah, dan yang memiliki massa jenis lebih kecil akan berada di lapisan atas. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak nantinya akan terpisah sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan sesuai prinsip *like dissolve like*. (Harbone, 1987).

BAB III Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium untuk menguji aktivitas antioksidan daun dan rimpang tanaman gandasuli (*Hedycium coronarium* J. Koenig). Proses yang dilakukan meliputi determinasi tanaman, persiapan bahan, karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, ekstraksi, fraksinasi dan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH.

Penyiapan bahan meliputi proses pengumpulan dan pengolahan bahan. Rimpang dan daun tanaman gandasuli yang telah dicuci dan disortasi dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C.

Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, dan penetapan susut pengeringan.

Penapisan fitokimia yang akan dilakukan meliputi pemeriksaan terhadap berbagai golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, steroid dan terpenoid menggunakan pereaksi warna. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang telah didapat selanjutnya dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu dibawah titik didih pelarut. Ekstrak kental yang didapat kemudian dipisahkan dengan fraksinasi secara ekstraksi cair – cair menggunakan pelarut n heksana dan etil asetat.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian secara kualitatif dilakukan dengan metode KLT dan hasil positif ditunjukkan dengan adanya bercak kuning setelah disemprot dengan DPPH 0,2% dalam metanol. Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dinyatakan dalam nilai IC_{50} yang diperoleh dari pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis pada λ absorban terbesar DPPH.