

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SERTA KANDUNGAN FENOLIK
DAN FLAVONOID TOTAL DAUN DEWANDARU (*Eugenia
uniflora L.*)**

LAPORAN TUGAS AKHIR

DINDA SWARI ARSYANI

12151009



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA
BANDUNG
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN DEWANDARU (*Eugenia
uniflora L.*) SERTA PENENTUAN KADAR FENOLIK DAN
FLAVONOID TOTAL**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

DINDA SWARI ARSYANI

12151009

Bandung, Februari 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Serta



(.R. Herni Kusriani, M.Si., Apt.)

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SERTA KANDUNGAN FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL DAUN DEWANDARU (*Eugenia uniflora* L.)

Oleh :

Dinda Swari Arsyani
12151009

Antioksidan dibutuhkan untuk mencegah efek radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh dari sumber alami seperti tanaman-tanaman famili Myrtaceae. *Eugenia uniflora* L. merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan serta menentukan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid total daun *Eugenia uniflora* L. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode soxhletasi dengan pelarut bertingkat yaitu n-heksana, etil asetat dan metanol. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dan CUPRAC. Kadar fenolik dianalisis secara kolorimetri menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Kadar flavonoid dihitung terhadap kuersetin secara kolorimetri berdasarkan metode Ordon. Nilai IC₅₀ ekstrak n-Heksana, etil asetat, metanol, daun *Eugenia uniflora* L. secara berturut-turut adalah 135,86 µg/mL, 101,29 µg/mL, 122,91 µg/mL. Nilai EC₅₀ metode CUPRAC ekstrak n-Heksana, etil asetat, dan metanol, daun dewandaru *Eugenia uniflora* L. secara berturut-turut adalah 115,35 µg/mL, 100,86 µg/mL, dan 110,16 µg/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun *Eugenia iniflora* L. memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Sedangkan hasil penetapan kadar fenolik dan flavonoid total menunjukkan kadar paling tinggi ekstrak n-heksan yaitu 22,46 mg GAE/100mg ekstrak dan 19,20 QE/100mg ekstrak.

Kata kunci: Antioksidan, CUPRAC, DPPH, Fenolik, Flavonoid
Eugenia uniflora L.

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENT OF DEWANDARU FOLIUM (*Eugenia uniflora* L.)

By:

**Dinda Swari Arsyani
12151009**

Antioxidants are needed to prevent the effects of free radicals. Antioxidants can be obtained from natural sources such as Myrtaceae family plants. Eugenia uniflora L. is one of the plants that has antioxidant potential. This research was conducted to determine the antioxidant activity of Eugenia uniflora L. leaves and determine the total phenolic compounds and flavonoids. Extraction was carried out by a soxhletation method using gradual solvents, n-hexane, ethyl acetate and methanol. The antioxidant activity test was carried out by the DPPH and CUPRAC free radical reduction methods. Total Phenolic content were determined by colorimetry using the Folin-Ciocalteau reagent. Total Flavonoid content were determined as quercetin by the Ordon colorimetric method. IC₅₀ values of n-hexane, ethyl acetate, methanol of Eugenia uniflora L. leaves by DPPH free radical scavenging method respectively are 135.86 µg/mL, 101.29 µg/mL, and 122.91 µg/mL. EC₅₀ values of n-hexane, ethyl acetate and methanol extracts by of the CUPRAC method of Eugenia uniflora L. leaves were 115.35 µg / mL, 100.86 µg / mL, and 110.16 µg / mL. These results indicate that the ethyl acetate extract of Eugenia iniflora L. leaves has the most powerful antioxidant activity. While the results of the determination of total phenolic and flavonoid levels showed that the highest levels of n-hexane extract were 22.46 mg GAE / 100mg extract and 19.20 QE / 100mg extract.

Keywords: Antioxidant, CUPRAC, DPPH, Phenolic, Flavonoid, *Eugenia uniflora* L.

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasi terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Bhakti Kencana, 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 Universitas Bhakti Kencana Fakultas Farmasi.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN DEWANDARU (*Eugenia uniflora L.*) MENGGUNAKAN METODE DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) DAN CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*) SERTA PENENTUAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL** 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 Ibu R. Herni Kusriani, M.Si., Apt selaku pembimbing serta yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan dan sarannya kepada penulis dalam menyelesaikan Skripsi ini.

2. Ibu tercinta dan Almarhum Bapak juga 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.
5. Sahabat dan teman-teman yang telah banyak mendoakan juga memberikan semangat selama penyusunan skripsi ini.

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

Bandung, Februari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR SINGKATAN	xv
Bab I Pendahuluan	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Identifikasi Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	3
Bab II Tinjauan Pustaka	4
II.1 Tinjauan Botani	4
A. Klasifikasi	4
B. Nama daerah	5
C. Morfologi	5
II.2 Tinjauan Kimia	6
II.3 Kandungan Kimia Tanaman Potensi sebagai Antioksidan	6
II.4 Khasiat dan Penggunaan Di Masyarakat	6
II.5 Aktivitas Farmakologi	7
A. Antioksidan	7

B. Sitotoksik	7
II.6 Tinjauan Tentang Ekstrak	8
A. Maserasi	8
B. Refluks	9
C. Perkolasi	9
D. Soxhletasi	9
E. Infundasi	10
II.7 Polifenol	10
II.8 Flavonoid	11
II.9 Radikal Bebas	12
II.10 Antioksidan	12
A. Antioksidan Primer	12
B. Antioksidan Sekunder	13
C. Antioksidan Tersier	13
II.11 Uji Aktivitas Antioksidan	13
A. DPPH	13
B. CUPRAC	15
C. ABTS	15
D. FRAP	16
E. Xantin Oksidase	16
F. Tiosianat	16
Bab III Metodologi Penelitian	17
Bab IV Alat dan Bahan Penelitian	20
IV.1 Alat	20
IV.2 Bahan	20

Bab V Prosedur Kerja.....	21
V.1 Penyiapan Bahan	21
V.1.1 Pengumpulan Bahan	21
V.1.2 Determinasi Bahan	21
V.1.3 Pengolahan Bahan	21
V.2 Karakteristik Simplisia	21
V.2.1 Penetapan Kadar Abu Total.....	22
V.2.2 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam.....	22
V.2.3 Penetapan Kadar Sari Larut Etanol.....	23
V.2.4 Penetapan Kadar Sari Larut Air	23
V.2.7 Penetapan Susut Pengerinan	24
V.3 Penapisan Fitokimia	24
V.3.1 Pemeriksaan Alkaloid	24
V.3.2 Pemeriksaan Steroid/triterpenoid	24
V.3.3 Pemeriksaan Flavonoid	25
V.3.4 Pemeriksaan Saponin.....	25
V.3.5 Pemeriksaan Kuinon	25
V.3.6 Pemeriksaan Tanin	25
V.4 Ekstraksi	26
V.5 Pemantauan Ekstrak	26
V.6 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.....	26
V.6.1 Uji Kualitatif DPPH.....	27
V.6.2 Uji Kuantitatif DPPH	27
V.7 Uji Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC.....	28
V.8 Penentuan Kadar Senyawa Fenolat	29

V.9 Penentuan Flavonoid Total	29
Bab VI Pembahasan	30
VI.1. Penyiapan Bahan	30
VI.1.1 Pengumpulan Bahan	30
VI.1.2 Determinasi Tanaman	30
VI.1.3. Pengolahan Bahan	30
VI.2. Karakteristik Simplisia	31
VI.3. Skrining Fitokimia.....	32
VI.4 Ekstraksi	33
VI.5 Pemantauan Ekstrak	35
VI.6 Penetapan Kadar Fenol Total	37
VI.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total	39
VI.8 Uji Aktivitas Antioksidan.....	41
VI.9.1 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	42
VI.9.2 Uji Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC	45
VII.1 Kesimpulan	48
VII.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Bagan Alir Kerja.....	56
Lampiran 2 Hasil Determinasi.....	57
Lampiran 3 Hasil Perhitungan IC_{50} Daun Dewandaru (<i>Eugenia uniflora</i> L.)	58
Lampiran 4 Hasil Perhitungan EC_{50} Daun Dewandaru (<i>Eugenia uniflora</i> L.)	59
Lampiran 5 Hasil Pengukuran Vitamin C Metode DPPH	60
Lampiran 6 Hasil Pengukuran Vitamin C Metode CUPRAC	61
Lampiran 7 Regresi Linier Konsentrasi terhadap Persen Inhibisi Dengan Metode DPPH	62
Lampiran 8 Regresi Linier Konsentrasi terhadap Persen Inhibisi Dengan Metode CUPRAC	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar II. 1: Dewandaru (<i>Eugenia uniflora</i> L)	4
Gambar II. 2 Struktur senyawa fenol (Harbone, 1987)	11
Gambar II. 3 Kerangka dasar flavonoid (Markham, 1988)	11
Gambar II. 4 Struktur kimia DPPH radikal bebas (a) dan DPPH non radikal (b)	14
Gambar VI. 1: kromatogram ekstrak daun dewandaru non polar....	35
Gambar VI. 2 : kromatogram ekstrak daun dewandaru semi polar..	36
Gambar VI. 3 : kromatogram ekstrak daun dewandaru polar.....	36
Gambar VI. 4: Kurva standar asam galat pada λ 765 nm	38
Gambar VI. 5: Kurva standar kuersetin pada λ 420 nm	40
Gambar VI. 6 Kurva Standar Larutan Baku DPPH	43

DAFTAR TABEL

Tabel VI. 1 Hasil Pemeriksaan Simplisia	31
Tabel VI. 2 Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak	33
Tabel VI. 3 Rendemen Ekstrak	34
Tabel VI. 4 Kadar Fenol Total	39
Tabel VI. 5 Kadar Flavonoid Total	41
Tabel VI. 6 Larutan Baku DPPH.....	42
Tabel VI. 7 Nilai IC ₅₀ Daun Dewandaru.....	45
Tabel VI. 8 Nilai EC ₅₀ Daun Dewandaru	47

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 selalu terdapat dalam kehidupan sehari-hari manusia. Polusi udara merupakan salah satu contoh sumber radikal bebas. Sumber radikal bebas lainnya yaitu racun, paparan sinar matahari berlebih, asap rokok, makanan yang digoreng. Dalam tubuh, radikal bebas dapat menjadi senyawa yang sangat reaktif dengan cara mengikat elektron molekul sel tubuh akibat adanya elektron-elektron yang tidak berpasangan pada senyawa radikal bebas (Wijaya, 1996). Reaksi ini dapat berlangsung terus menerus dalam tubuh dan mengakibatkan berbagai penyakit seperti jantung, penuaan dini, kanker, serta penyakit degeneratif lainnya. Diperlukan antioksidan untuk menangkap atau berikatan dengan radikal bebas sehingga tidak menginduksi penyakit-penyakit tersebut (Kikuzaki, 2002).

Antioksidan termasuk senyawa pendonor elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga aktivitas radikal tersebut dapat terhambat. Ketidakstabilan radikal bebas dapat distabilkan oleh antioksidan dengan melengkapi kekurangan elektron pada senyawa radikal bebas (Winarsi, 2007).

Dewandaru mengandung saponin, tannin, vitamin C, senyawa atsiri seperti sineol, sitronela, sesquiterpen, flavonoid, dan antosianin

(Einbond, et al, 2004; Hutapea, 1991). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa dewandaru memiliki aktivitas antibakteri (Khotimah, 2004), antioksidan (Einbond, et al, 2004), penangkal radikal bebas, penghambat hidrolisis dan oksidasi enzim, dan antiinflamasi (Pourmorad, et al, 2006). Ekstrak daun dewandaru mengandung beberapa flavonoid antioksidan seperti mirisetin, mirisitrin, gallokatekin, kuersetin, and kuersitrin (Schmeda-Hirschmann, et al, 1987).

Penelitian terhadap aktivitas antioksidan daun dewandaru pada tahap fraksi diketahui bahwa secara umum fraksi-fraksi daun dewandaru memiliki aktivitas penangkap radikal yang besar. Uji aktivitas penangkap radikal daun dewandaru dengan metode DPPH menunjukkan terdapat aktivitas antioksidan pada fraksi polar dan non polar ekstrak etanol dengan nilai IC₅₀ 4,57 µg/ml dan 5,00 µg/ml (Utami *et al*, 2018). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun dewandaru dengan metode DPPH juga menunjukkan terdapat aktivitas antioksidan pada fraksi polar dengan nilai IC₅₀ 9,43 µg/ml dan fraksi non polar dengan nilai IC₅₀ 13,02 µg/ml (Utami *et al*, 2018).

Pada penelitian sebelumnya dalam menentukan aktivitas antioksidan tanaman dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) banyak menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Pada penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dan CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*). Kelebihan dari metode CUPRAC adalah pereaksi yang digunakan cukup cepat

bekerja, selektif, lebih stabil, mudah didapatkan dan mudah diaplikasikan.

I.2 Identifikasi Masalah

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Berapa nilai IC_{50} untuk DPPH dan nilai EC_{50} untuk CUPRAC pada ekstrak daun dewandaru?
2. Berapa kadar flavonoid dan fenol total dalam ekstrak daun dewandaru ?
3. Bagaimana hubungan antara flavonoid dan fenol total dengan aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun dewandaru?

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui nilai IC_{50} untuk DPPH dan EC_{50} untuk CUPRAC pada ekstrak daun dewandaru.
2. Mengetahui kadar flavonoid dan fenol total dalam ekstrak daun dewandaru.
3. Mengetahui hubungan kadar flavonoid dan fenol total dengan aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun dewandaru.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September-Desember 2019 di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana yang beralamat di Jl. Soekarno Hatta No. 754 Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Tinjauan Botani

Tanaman dewandaru tersebar luas di Amerika Selatan terutama di Brasil, Argentina, Uruguay, dan Paraguay. Di Indonesia, tanaman ini terdapat di Sumatera dan Jawa (Hermanto, *et al*, 2013).



Gambar II. 1: Dewandaru (*Eugenia uniflora L*)

(*Dokumen Pribadi, 2019*)

A. Klasifikasi

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: Eugenia
Jenis	: <i>Eugenia uniflora Linn.</i>

Sinonim : *Eugenia uniflora Lam.*

(Backer & Brink, 1965)

B. Nama daerah

Jawa : Asam selong, belimbing londo, dewandaru.

Sumatra : Cereme asam.

(Hutapea, 1994)

C. Morfologi

Habitus : Perdu, tahunan, tinggi \pm 5 m.

Batang : Tegak berkayu, bulat, coklat.

Daun : Tunggal, tersebar, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang \pm 5 cm, lebar \pm 4 cm, hijau.

Bunga : Tunggal, berkelamin dua, daun pelindung kecil, hijau, kelopak bertajuk tiga sampai lima, benang sari banyak, putih, putik silindris, mahkota bentuk kuku, kuning.

Buah : Buni, bulat, diameter \pm 1,5 cm, merah.

Biji : Kecil, keras, coklat.

Akar : Tunggang, coklat.

(Hutapea, 1994)

II.2 Tinjauan Kimia

Dewandaru memiliki beberapa kandungan kimia diantaranya tannin, alkaloid, dan glikosida (lycopene, β -karoten, γ -karoten, ζ -karoten, phytofluene, β -cryptoxanthine, dan rubixanthin (Calvacante and Rodriguez-Amaya, 1992), alkaloid indolizidin dan piperidin (Consolini, 2002), antosianin (Einbond, et al, 2004). Sedangkan pada daunnya kaya akan minyak atsiri seperti furanodiene, β -elemene, dan α -cadinol (Melo, et al, 2007).

II.3 Kandungan Kimia Tanaman Potensi sebagai Antioksidan

Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, bioflavonoid, vitamin C, vitamin E, β -karoten, katekin, dan resveratrol (Hernani dan Raharjo, 2006). Flavanoid dan polifenol memiliki kontribusi yang besar terhadap total aktivitas antioksidan dari suatu buah-buahan atau sayuran (Luo et al., 2002; Vinson et al., 1999 cit Einbond et al., 2004). Beberapa flavanoid yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu: myricetin, myricitrin, galocatechin, quercetin, dan quercitrin (Schmeda et al., 1987 cit Reynertson, 2007).

II.4 Khasiat dan Penggunaan Di Masyarakat

Di Brasil buah Dewandaru sering digunakan sebagai antihipertensi dan pengobatan untuk gangguan pencernaan. Di beberapa daerah, digunakan sebagai diuretik, hipotensi, anti inflamasi, anti diare, dan antimikroba. Kandungan fitokimia pada spesies *Eugenia* mengungkapkan adanya flavonoid, tanin, terpenoid, dan minyak esensial. Secara farmakologi, penelitian yang dilakukan

dengan ekstrak buah dan senyawa telah terbukti memiliki efek anti inflamasi, analgesik dan antipiretik, antijamur, hipotensi, antihiperlipidemia, hipoglikemik, dan aktivitas antioksidan (Figueiroa, et al., 2013). Selain itu, ekstrak daun dewandaru dapat berfungsi sebagai antioksidan yang disebabkan karena adanya senyawa flavonoid (Utami, dkk, 2005).

II.5 Aktivitas Farmakologi

Aktivitas Farmakologi *Eugenia uniflora L* sebagai Antioksidan dan Anti Kanker.

A. Antioksidan

Sifat antioksidan dari ekstrak *Eugenia uniflora L*. tersebut diuji menggunakan metode radikal 2,2 – difenil – 1 – pikrilhidrazil (DPPH) dengan pembandingnya asam askorbat. Ekstrak etil asetat menunjukkan nilai IC₅₀ 0,919 mg/ml, nilai ini termasuk tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak methanol 1,019 mg/ml dan heksana 1,229 mg/ml (Joseph A et al, 2018).

B. Sitotoksik

Pada penelitian sebelumnya Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) adalah tanaman yang memiliki prospek yang baik untuk pengembangan sebagai obat antikanker.

Uji sitotoksik *Eugenia uniflora L*. terhadap sel HeLa menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki efek sitotoksik yang lebih tinggi daripada ekstrak etanol dan kloroform. Uji sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metode MTT dengan seri konsentrasi 5, 10, 25, 50, 125, 250 µg / ml. Nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat 241,546 µg / ml dan

ekstrak IC₅₀ kloroform 244.906 µg / ml. Sedangkan ekstrak etanol, tidak dapat ditentukan nilainya IC₅₀ karena tidak menunjukkan potensi penghambatan terhadap pertumbuhan sel HeLa (Handayani, 2006). Lee M.H. et al (2000) melakukan penelitian tentang dampak *Eugenia uniflora L.* terhadap virus Epstein-Barr (EBV) yang sering dikaitkan dengan Nasopharyngeal carcinoma (NPC). Empat senyawa tanin yang dimiliki oleh *Eugenia uniflora L.* dan IC₅₀ adalah gallocatechin (26,5 microM), oenothain B (62,3 microM), eugeniflorins D (1) (3,0 microM), dan eugeniflorins D (2) (3 , 5 microM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa eugeniflorin D (1) dan D (2) adalah senyawa yang memiliki potensi tertinggi dalam menghambat DNA polimerase dalam EBV.

II.6 Tinjauan Tentang Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Ansel, 1989). Metode pembuatan ekstrak yang umum antara lain maserasi, perkolasi, soxhletasi, dan infudasi. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa factor seperti sifat dari bahan mentah obat dan penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna (Ansel, 1989).

Beberapa metode ekstraksi dapat diuraikan sebagai berikut :

A. Maserasi

Maserasi merupakan proses paling tepat untuk simplisia yang sudah halus dan memungkinkan direndam hingga meresap dan melunakkan

susunan sel, sehingga zat-zatnya akan larut. Proses ini dilakukan dalam bejana bermulut lebar, serbuk ditempatkan lalu ditambah pelarut dan ditutup rapat, isinya dikocok berulang-ulang kemudian disaring. Proses ini dilakukan dalam temperature 15-20°C dalam 3 hari (Ansel, 1989).

B. Refluks

Ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik (Ansel, 1989).

C. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyaringan serbuk simplisia dengan pelarut yang cocok dengan melewati secara perlahan-lahan melewati kolom, serbuk simplisia dimasukan ke dalam percolator. Dengan cara penyaringan ini mengalirkan cairan melalui kolom dari atas kebawah melalui celah untuk keluar dan ditarik oleh gaya berat seberat cairan dalam kolom. Dengan pembaharuan yang terus menerus dalam pelarut, memungkinkan berlangsungnya maserasi bertingkat (Ansel, 1989).

D. Soxhletasi

Bahan yang akan disari berada didalam kantung ekstraksi (kertas, karton) didalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang berada diantara labu suling dan suatu pendingin. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap dan jika diberi pemanasan akan menguap mencapai kedalam pendingin balik melalui pipa pipet, pelarut ini berkondensasi

didalamnya dan menetes keban yang disari. Larutan berkumpul didalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimum secara otomatis ditarik kedalam labu tersebut (Voigt, 1995).

E. Infundasi

Infundasi adalah proses penyaringan yang umumnya digunakan untuk menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dan bahan-bahan nabati. Penyaringan dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh karena itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Anonim, 1986).

II.7 Polifenol

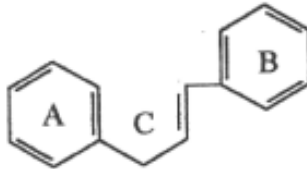
Senyawa polifenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Senyawa polifenol mudah larut dalam air karena sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Salah satu contoh senyawa fenol yaitu asam galat (Gambar II.2).



Gambar II. 2 Struktur senyawa fenol (Harbone, 1987)

II.8 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar dan tersusun dari 15 atom karbon pada inti dasarnya dengan konfigurasi yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988). Adapun kerangka dasarnya dipaparkan pada (Gambar II.3).



Gambar II. 3 Kerangka dasar flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid adalah salah satu jenis senyawa yang bersifat racun/aleopati, yang merupakan persenyawaan dari gula yang terikat dengan flavon. Flavonoid mempunyai sifat khas yaitu bau yang sangat tajam, rasanya pahit, dapat larut dalam air dan pelarut organik, serta mudah terurai pada temperatur tinggi (Ikawati, 2000). Flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan serangga dan juga bersifat toksik. Flavonoid memiliki sejumlah kegunaan antara lain: pertama terhadap tumbuhan,

yaitu sebagai pengatur pertumbuhan tumbuhan, pengatur fotosintesis, kerja antimiroba, dan antivirus. Kedua, terhadap manusia, yaitu sebagai antibiotik terhadap penyakit 9 kanker dan ginjal, menghambat pendarahan. Ketiga, terhadap serangga, yaitu sebagai daya tarik serangga untuk melakukan penyerbukan dan sebagai bahan aktif dalam pembuatan insektisida nabati (Dinata, 2009).

II.9 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul oksigen yang dalam interaksinya dengan molekul lain kehilangan sebuah electron di lingkaran terluar orbitalnya, sehingga jumlah elektronnya ganjil. Karena jumlah elektronnya ganjil, molekul ini menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mencari pasangan electron baru dengan cara mengambil electron molekul lain yang berdekatan (Kusumadewi, 2002).

II.10 Antioksidan

Antioksidan adalah zat aktif yang dapat menunda atau mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid (Dalimartha dan Soedibyo, 1999). Antioksidan berfungsi mengatasi atau menetralsisir radikal bebas dan melindungi tubuh dari beragam penyakit. Antioksidan adalah zat yang dapat menetralsisir radikal bebas sehingga atom dengan electron yang tidak berpasangan mendapat pasangan electron sehingga tidak liar lagi (Kosasih, 2004).

A. Antioksidan Primer

Antioksidan primer berperan untuk mencegah pembentukan radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi

molekul yang kurang reaktif, dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk stabil. Contoh : enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion dismutase (Belleville-Nabet, 1996).

B. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder atau antioksidan non-enzimatis, berfungsi untuk menangkap senyawa radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh : Vitamin E, Vitamin C, Beta Karoten (Belleville-Nabet, 1996).

C. Antioksidan Tersier

Antioksidan Tersier berfungsi untuk memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan dengan rusaknya *single* dan *double strand*, baik gugus basa maupun non-basa. Contoh : enzim yang memperbaiki DNA seperti metionin sulfoksida reduktase (Belleville-Nabet, 1996).

II.11 Uji Aktivitas Antioksidan

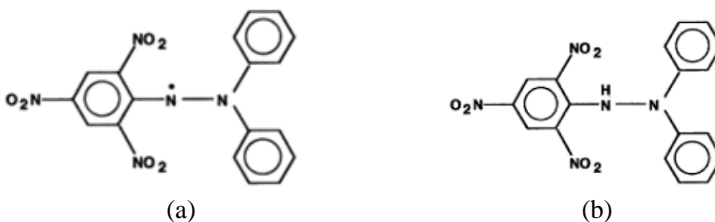
Pengujian antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya metode DPPH, CUPRAC, ABTS, FRAP, xantin oksidase, dan tiosianat.

A. DPPH

Senyawa DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktivitas dengan cara mendelokasi electron bebas pada suatu

molekul, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas pada suatu molekul, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas lain. Proses delokalisasi ini ditunjukkan dengan adanya warna ungu (violet) pekat yang dapat dikarakterisasi pada pita absorpsi dalam pelarut etanol pada panjang gelombang 520 nm (Molyneux, 2004).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH (dalam methanol) berwarna tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 517 nm. Suatu 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) (Molyneux, 2004).



Gambar II. 4 Struktur kimia DPPH radikal bebas (a) dan DPPH non radikal (b)

Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode DPPH adalah IC_{50} (inhibition concentration). IC_{50} merupakan

konsentrasi larutan substrata atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 0,05 mg/mL, kuat untuk IC_{50} antara 0,05-0,1 mg/mL. sedang jika IC_{50} bernilai 0,101-0,150 mg/mL, dan lemah jika IC_{50} bernilai 0,150-0,200 mg/mL.

B. CUPRAC

Prinsip dari uji cupric adalah pembentukan kelat oleh bis (neocuproin) besi (II) menggunakan pereaksi redoks kromogenik pada pH 7. Absorbansi dari pembentukan kelat Cu (I) merupakan hasil dari reaksi redoks dengan mereduksi polifenol yang diukur pada panjang gelombang 450 nm. Untuk spectrum Cu (I) Ne diperoleh dengan mereaksikan asam askorbat sebagai konsentrasi dengan reagen cupric. Kondisi reaksi seperti konsentrasi reagen, pH, waktu oksidasi pada suhu kamar dan peningkatan suhu pada percobaan dapat berasal dari sumber lain.

Kelebihan dari metode CUPRAC adalah pereaksi yang digunakan cukup bekerja, selektif, lebih stabil, mudah didapatkan dan mudah untuk diaplikasikan. (Apak, dkk., 2013).

C. ABTS

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