

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit dan Daging Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Dengan Metode DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)

Laporan Tugas Akhir

**Yudha Prasetyo
11171155**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

ABSTRAK

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit dan Daging Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)

**Oleh :
Yudha Prasetyo
11171155**

Radikal bebas yaitu molekul tidak stabil dan memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luar yang akan mengikat elektron dan menyebabkan reaksi oksidasi yang bisa menimbulkan terjadinya penyakit degeneratif. Antioksidan adalah suatu senyawa kimia yang dapat memberi elektron lebih pada suatu radikal yang bersifat bebas. Buah naga atau Dragon fruit adalah buah yang berasal dari Meksiko yang sekarang banyak dikembangkan di Indonesia, buah ini memiliki senyawa antioksidan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui antioksidan pada kulit dan daging buah naga merah lalu mengevaluasi hasil antioksidan yang diperoleh. Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yaitu dengan metode DPPH untuk menentukan aktivitas antioksidan dan sebagai control positif digunakan vitamin C. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan aktivitas antioksidan pada ekstrak methanol daging buah naga merah memiliki nilai IC_{50} sebesar 65,94 ppm dan kulit buah naga merah 61,01 ppm. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kulit buah naga merah memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding dengan dagingnya walaupun dari kedua sampel tersebut memiliki kadar yang tinggi karena nilai IC_{50} kurang dari 100 ppm.

Kata Kunci : Radikal bebas, antioksidan, buah naga, DPPH, vitamin C, IC_{50}

ABSTRACT

Antioxidant Activity Test of Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Skin and Flesh Extract USING DPPH METHOD (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHYDRAZIL)

By:
Yudha Prasetyo
11171155

Free radicals are unstable molecules and have unpaired electrons in their outer orbitals that will bind electrons and cause oxidation reactions that can cause degenerative diseases. Antioxidant is a chemical compound that can donate more electrons to a free radical. Dragon fruit a fruit originating from Mexico which is now widely developed in Indonesia, this fruit has high antioxidant compounds. This study to determine the antioxidants in the skin and flesh of red dragon fruit and then evaluate the antioxidant results obtained. This research method is a laboratory experimental method, namely the DPPH method to determine antioxidant activity and as a positive control vitamin C is used. The results obtained show that the antioxidant activity in the methanol extract of red dragon fruit flesh has an IC₅₀ value of 65.94 ppm and red dragon fruit peel of 65.94 ppm. 61.01 ppm. Based on these results, it can be concluded that the red dragon fruit peel methanol extract has higher antioxidant activity than the flesh, although both samples have high levels because the IC₅₀ value is less than 100 ppm.

Keywords: *Free radicals, antioxidant, dragon fruit, DPPH, vitamin C, IC₅₀*

LEMBAR PENGESAHAN

**Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit dan Daging Buah Naga Merah
(*Hylocereus polyrhizus*) DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-
PIKRILHIDRAZIL)**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Yudha Prasetyo
11171155**

Bandung, 16 Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Apt. Asep Roni, M.Si)
NIDN. 0425128003



(Aulia Nurfazri, M.Si)
NIDN. 0404019302

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan pada kehadiran Allah SWT karena atas rahmat dan karuanianya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah dan Daging Buah naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Dengan Metode DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL). Pada skripsi ini membahas mengenai uji antioksidan pada daging dan kulit buah naga merah dengan metode DPPH. Adapun tujuan dan maksud dari penulisan skripsi ini sebagai syarat untuk mengikuti sidang skripsi jurusan Farmasi dari rubi Biologi farmasi.

Selama penelitian dan penulisan pada skripsi ini cukup banyak hambatan yang dialami tetapi berkat bantuan dan bimbingan daripada dosen pembimbing dan berbagai pihak maka akhirnya skripsi ini bisa diselesaikan dengan baik.

bandung, Juni 2021



Yudha Prasetyo

UCAPAN TERIMA KASIH

Penyusunan laporan tugas akhir ini tidak akan maksimal tanpa dukungan dari beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih terhadap:

1. Keluarga: Yaitu kedua orang tua penulis. Terima kasih sudah mendukung dan selalu mendoakan penulis agar terus bersemangat menuntaskan laporan tugas akhir ini.
2. Bapak apt. Asep Roni M.Si., selaku pembimbing utama dan Ibu Aulia Nurfazri, M.Si., selaku pembimbing serta yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan. Semoga Allah membalas segala kebaikan beliau dengan rahmat-Nya.
3. Seluruh dosen dan seluruh civitas akademika Fakultas Farmasi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
4. Rekan-rekan seperjuangan Program Studi S1 Farmasi Angkatan 2017 yang sudah memberi bantuan serta dukungan hingga akhirnya dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini.

Akhir kata penulis mengucapkan Jazakumullahu khairan katsira dan semoga bermanfaat bagi para pembaca umumnya dan bagi penulis pada khususnya. Semoga Allah senantiasa melindungi kita serta memberikan petunjuk-Nya pada langkah kita selanjutnya. Amiin.

bandung, Juni 2021



Yudha Prasetyo

DAFTAR ISI

ABSTRAK	2
ABSTRACT	3
KATA PENGANTAR	5
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xi
BAB I. PENDAHULUAN	12
1.1. Latar belakang	12
1.2. Rumusan masalah	13
1.3. Tujuan dan manfaat penelitian.....	13
1.4. Manfaat penelitian	13
1.5. Tempat dan waktu Penelitian	13
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	14
2.1 Ekologi Buah Naga	14
2.2 Morfologi Tanaman Buah Naga	14
2.3 Taksonomi buah naga merah.....	15
2.4 Morfologi dan Ekologi buah naga merah (<i>Hylocereus ptyrhizus</i>).....	16
2.5 Khasiat.....	16
2.6 Metode Uji Antioksidan	17
2.7 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).....	17
2.8 Ekstraksi	18
2.9 Penapisan fitokimia.....	19
2.10 Kromatografi Lapis Tipis	21
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	22
3.2 Subyek Penelitian.....	22
3.3 Metode Pengumpulan Data	22
3.4 Analisis Data.....	22
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	23
4.1 Penyiapan Sampel.....	23
4.2 Karakterisasi	23

4.3	Penapisan fitokimia.....	24
4.4	Pemantauan Ekstrak.....	25
4.5	Uji aktivitas antioksidan.....	25
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN		26
5.1	Penyiapan bahan	27
5.2	Ekstraksi sampel simplisia	27
5.3	Karakterisasi	27
5.4	Skrining fitokimia	28
5.5	Pemantauan Ekstrak.....	29
5.6	Uji Aktivitas Antioksidan.....	33
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN		37
DAFTAR PUSTAKA		38
LAMPIRAN		39

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2.1 Buah Naga Merah (<i>Hylocereus ptyrhizus</i>)	15
Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Sumber : jurnal unpkj.ac.id).	18
Gambar 5.1	30
Gambar 5.2	31
Gambar 5.3	32
Gambar 5.4. Grafik aktivitas penangkalan radikal	34
Gambar 5.5. Grafik aktivitas penangkalan radikal	35
Gambar 5.6. Grafik aktivitas penangkalan radikal	36

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 jumlah kandungan gizi pada buah naga merah	16
Tabel 4.1 nilai IC50	26
Tabel 5.1 Rendemen ekstrak	27
Tabel 5.2 Penapisan Fitokimia	28
Tabel 5.2 Hasil pengujian aktivitas antioksidan Kulit buah naga merah dengan metode DPPH.....	33
Tabel 5.3 Hasil pengujian aktivitas antioksidan daging buah naga merah dengan metode DPPH.....	34
Tabel 5.4 Hasil pengujian aktivitas antioksidan asam askorbat dengan metode DPPH..	35

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
DPPH	<i>1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl</i>
IC ₅₀	<i>inhibition concentration 50%</i>
ABTS	<i>2,2-Azinobis(3- ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid</i>
CUPRAC	<i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i>
FRAP	<i>ferric reducing antioxidant power</i>
UV	<i>Ultra violet</i>
KLT	<i>Kromatografi Lapis Tipis</i>

BAB I. PENDAHULUAN

5.1.1 Latar belakang

Radikal bebas yaitu suatu molekul yang tidak stabil dan memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luar yang membuat radikal bebas itu sangat reaktif pada sel-sel tubuh dimana radikal bebas akan mengikat elektron dan menyebabkan reaksi oksidasi (Pietta, 1999; Wijaya, 1996). Suatu oksidasi yang berlebihan pada DNA, protein, lemak dan asam nukleat dapat menimbulkan terjadinya penyakit degeneratif seperti serangan jantung koroner, kanker, dan gangguan kognisi (Leong dan Shui, 2001).

Tahun 2011 WHO menunjukkan sebagian penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus, stroke termasuk dalam beberapa penyakit mematikan. Dalam kehidupan sehari-hari manusia tidak bisa lepas dari senyawa radikal bebas. Mulai dari polusi udara lalu asap kendaraan dan sinar matahari yg berlebihan bahkan makanan yang digoreng atau dibakar yang merupakan beberapa sumber yang membentuk radikal bebas (Pietta, 1999; Wijaya, 1996). Banyak bukti ilmiah yang menunjukkan bahwa penyakit degeneratif maupun kronis akibat dari radikal bebas dapat dikurangi dengan vitamin C, pilifenol, flavonoid dan E, A karoten (Prakash, 2001).

Antioksidan adalah suatu senyawa kimia dimana senyawa tersebut dapat memberi elektron lebih pada suatu radikal yang bersifat bebas, dimana antioksidan akan menghambat reaksi yang menyebabkan radikal bebas dan mencegah suatu radikal bebas yang baru. Kalau dilihat dari sumbernya, antioksidan itu ada yang sintetik maupun alami tetapi dengan semakin banyak masyarakat khawatir dengan efek samping daripada antioksidan sintetik ini seperti Butil Hidroksil Anisol, Butil Hidroksil Toluena yang memiliki sifat karsinogen sehingga antioksidan alami penggunaannya terjadi peningkatan (Winarsih, 2007).

Buah naga yang berasal dari Meksiko sekarang banyak dikembangkan di Indonesia. Buah ini termasuk dalam famili *Cartaceae* dan berbeda dengan famili lainnya karena rasa manis dan segar pada buahnya lalu tiap nodus batang pada tanaman ini terdapat duri dan bunga pada tanaman ini mekar pada malam hari dan layu pada pagi hari atau bisa disebut dengan (*night blooming*) yang menjadikan ciri khas tersendiri pada tanaman buah naga tersebut. Terdapat empat jenis dimana setiap jenisnya berbeda mulai dari daging merah, kuning dan putih. Di Indonesia yang banyak dikonsumsi dan dikembangkan adalah buah naga putih dan buah naga daging merah. Dengan banyak kandungan pada buah naga yang bersifat sebagai antioksidan maka buah naga bisa menjadi salah satu sebagai sumber antioksidan. Buah naga bisa potensial untuk dikembangkan tetapi umumnya masih sangat terbatas dan hanya diolah daging buahnya saja lalu kulitnya dibuang. Kulit buah naga mengandung banyak vitamin seperti vitamin C, E, A, dan ada juga alkaloid, flavonoid, terpenoid, niasin dan karoten (Jaafar, *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian Li Chen Wu (2005), kulit buah naga mengandung banyak polyphenol dan antioksidan lalukadar antioksidan kulit buah naga lebih tinggi dibanding daging buah nya (Nurliyana, 2010).

Dari latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk membandingkan kadar antioksidan daripada daging dan kulit buah naga merah dengan menggunakan sampel yang sama dengan pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH.

5.1.2 Rumusan masalah

1. Berapa nilai IC_{50} antara kulit dan daging buah naga merah
2. Manakah antara kulit atau daging buah naga merah yang memiliki aktivitas antioksidan lebih baik

5.1.3 Tujuan dan manfaat penelitian

Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk mengetahui antioksidan yang berperan penting sebagai anti radikal bebas pada kulit dan daging buah naga lalu mengevaluasi hasil antioksidan yang diperoleh.

5.1.4 Manfaat penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat menjadi informasi ilmiah dan rujukan dalam pengembangan antioksidan dari bahan kulit dan daging buah naga merah .

5.1.5 Tempat dan waktu Penelitian

Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana pada bulan Februari 2021

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekologi Buah Naga

Buah naga berasal dari amerika latin sekarang banyak di kembangkan di negara asia, Buah ini termasuk kedalam tanaman kaktus dari marga *Hylocereus* dan *selenicereus*, kadar air dalam buah naga yaitu 83% sehingga sering dikonsumsi dalam bentuk buah segar untuk penghilang dahaga (Kristanto, 2008). Buah naga ini secara fisik mirip dengan buah nanas hanya saja yang membedakan adalah pada kulitnya buah naga ini memiliki sulur dan memiliki warna merah jambu dengan daging buah berbagai jenis (Mahmudi, 2011).

Buah naga memiliki kandungan mineral, vitamin dan serat yang baik, menurut hasil penelitian menjelaskan bahwa dalam buah naga masak segar sebanyak 100 gram memiliki kandungan gizi mulai dari protein, mineral dan vitamin. Buah naga juga mengandung serat dimana serat tersebut dibutuhkan tubuh untuk menurunkan kolesterol yang mana semakin tinggi konsumsi serat maka semakin banyak asam empedu dan lemak yang dikeluarkan oleh tubuh. Selain itu buah naga mengandung senyawa fungsional yang dapat mencegah penyakit yang berhubungan dengan gizi dan dapat meningkatkan fisik dan mental konsumen seperti antioksidan sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai sumber bahan fungsional yang memberikan nutrisi.

Buah naga termasuk kedalam genus *Hylocereane* dan memiliki sekitar 16 spesies dan yang sering dijumpai dan yang komersial adalah buah naga daging putih dan merah, adapun Klasifikasi buah naga adalah sebagai berikut: (Kristanto, 2008).

Divisi	: Tumbuhan berbiji (spermatophyta)
Sub divisi	: berbiji tertutup (agiospermae)
Kelas	: Berkeping dua (Dicotyledonae)
Ordo	: Cactales
Famili	: Cactales
Subfamili	: <i>Hylocereane</i>
Genus	: <i>Hylocereus</i>
Spesies	: - kulit berwarna merah daging putih (<i>Hylocereus undatus</i>) - Kulit berwarna merah daging merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) - Kulit berwarna merah daging super merah (<i>Hylocereus Costaricensis</i>) - kulit berwarna kuning, daging berwarna putih, tanpa sisik <i>Selenicereus magalanthus</i>

2.2 Morfologi Tanaman Buah Naga

Tanaman ini merupakan jenis tanaman memanjat yang mana asalnya dari Meksiko, Amerika tengah dan Amerika selatan. Tanaman ini memiliki batang, akar, cabang, buah, bunga serta biji sehingga tanaman ini termasuk tanaman yang tidak lengkap (Kristanto 2008). Menurut tim karya tani mandiri (2010) buah ini memiliki bunga besar, bewarna putih harum dan mekar pada malam hari, buah ini mempunyai sulur batang yang tumbuh menjalar. Akar tanaman ini tumbuh dari pangkal batang dalam tanah tapi tumbuh pada celah batang juga sebagai tempat melekatnya tanaman tersebut pada tanaman lain atau menyangga pada tiang. Akar pelekat pada tanaman ini membuat tumbuhan tetap dapat hidup sebagai epifit/tanpa tanah (Tim Karya Tani Mandiri,2010).

Kambium sebagai pertumbuhan pada tanaman ini disimpan pada batang dan cabang yang memiliki warna ungu dan hijau kebiruan. Tanaman ini memiliki batang berbentuk siku ataupun segitiga yang panjang , yang berfungsi menjadi daun untuk proses “asimilasi” dan akan berlapis lilin yang mengandung air jika tanaman tersebut sudah dewasa (Kristanto, 2008).

Buah naga adalah tumbuhan tropis dan tahan terhadap curah hujan, angin, sinar matahari dan dapat beradaptasi dengan tempat tumbuh. Tanaman buah naga ini harus tumbuh di tempat yang memiliki suhu antara 260 – 360 C dan kelembaban antara 70 – 90 %. Sekitar 60 mmm per bulannya ataupun 720 mm per tahun menjadi curah hujan ideal bagi tanaman ini . Tanaman ini lebih baik hidup didataran rendah antara 0 – 350 m dpl. (Rukmana, 2010).

Buah naga memiliki daging buah yang bewarna merah, hitam dan putih yang tergantung berdasarkan jenisnya. Daging buah memiliki tekstur lunak dan rasanya manis sedikit asam. Buah naga memiliki berat beragam tergantung jenis yaitu diantara 80 – 500 gram. Daging buahnya memiliki serat halus dan biji kecil yang bertebaran sangat banyak. Kulit buah naga beragam tergantung jenisnya, ada yang bewarna merah menyala atau gelap dan kuning sisik hewan naga yang menjumpai dan agak tebal. Buah ini berair dan berdaging. Bentuknya bulat dan sedikit memanjang atau bulat sedikit lonjong (Cahyono, 2009).

2.3 Taksonomi buah naga merah



Gambar 2.1 Buah Naga Merah (*Hylocereus ptyrhizus*)

Berikut ini klasifikasi Tumbuhan buah naga daging merah:

Divisi : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)

Subdivisi	: Angiospermae (biji tertutup)
Kelas	: Dicotyledonae (berkeping dua)
Ordo	: Cactales
Famili	: Cactaceae
Subfamili	: Hylocereanaea
Genus	: Hylocereus
Species	: Hylocereus polyrhizus (daging merah)

2.4 Morfologi dan Ekologi buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Buah naga termasuk tanaman tropis yang tahan di banyak cuaca. Tanaman ini baiknya ditanam di lahan yang tidak ada penutup dan sirkulasi yang baik karena intensitas sinar matahari yang disukai antara 70%-80% Sekitar 60mm/bulan atau 720mm curah hujan yang ideal untuk tumbuhan buah naga ini. Suhu yang baik untuk buah naga merah antara 26° - 36° C lalu kelembapan 70%-90%, lebih baik ditanam di dataran rendah antara 0-350mdpl dengan tanah harus bereasi baik dan pH tanah bersifat alkalis sekitar 6,5-7 (Hardjadinata, 2010).

Bentuk buah bulat dengan kulit bewarna merah dan berbisik serta rasa buahnya lebih manis dari buah naga daging putih atau *Hylocereus undatus*, sekitar 13-15 % Briks kadar kemanisan buah naga merah ini. Buah naga merah termasuk tanaman yang berbunga setiap tahunnya dan memiliki rata-rata berat buah sekitar 400 gram (Kristanto, 2008).

2.5 Khasiat

Sebagai buah yang mempunyai manfaat yang banyak buah ini memiliki kandungan zat yang baik bagi tubuh terutama pada kandungan antioksidannya dan juga banyak vitamin dan serat (Pareira, 2010).

Tabel 2.1 jumlah kandungan gizi pada buah naga merah (Sumber: Ide, 2009)

Zat	Kandungan gizi
Kadar air (%)	96 %
Protein (g)	0,159-0,229 g
Lemak (g)	0,21 - 0,61 g
Serat kasar (g)	0,7-0,9 g
Karoten (mg)	0,005-0,012 mg
Kalsium (mg)	6,3-8,8 mg
Fosfor (mg)	30,2-36,1 mg
Iron (mg)	0,55-0,65 mg
Vitamin B1 (mg)	0,28-0,043 mg

Vitamin B2 (mg)	0,043-0,045
Vitamin B3 (mg)	0,297-0,43
Vitamin C (mg)	8-9
Thiamine (mg)	0,28-0,030
Riboflavin (mg)	0,043-0,044
Niacin (mg)	1,297-1,300
Abu (g)	0,28
Lain-lain (g)	0,54-0,68

2.6 Metode Uji Antioksidan

2.6.1 CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)

CUPRAC yaitu salah satu metode menggunakan reagen copper(II)-neocuproine (Cu(II)-Nc) untuk melihat kadar antioksidan lalu senyawa polifenol, dan Vitamin E. Metode ini dapat juga untuk melihat kapasitas antioksidan senyawa fenolik dan juga metode ini berbiaya yang rendah (Apak, 2008).

2.6.2 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

DPPH adalah suatu senyawa radikal bebas stabil yang dapat dijadikan pereaksi untuk pengujian radikal bebas, DPPH ini stabil sangat lama sampai bertahun-tahun dengan catatan disimpan dengan penyimpanan yang baik dan kondisi kering, penggunaan DPPH hanya perlu dilarutkan saja. DPPH memiliki nilai basorbansi antara 515-520 nm (Vanselow, 2007).

2.6.3 FRAP (ferric reducing antioxidant power)

Metode untuk mengukur kadar antioksidan ini termasuk murah dan cepat tanpa alat khusus yang dilakukan dengan cara langsung, reagen yang digunakan pun termasuk yang sederhana (Szollosi R et al., 2002).

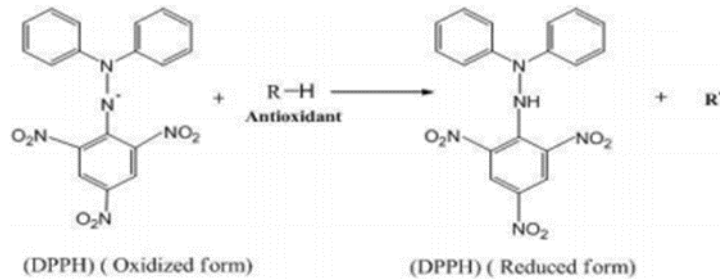
2.6.4 ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)

Metode ini memiliki prinsip melihat bagaimana antioksidan dapat menghambat radikal bebas 50%. Larutan ABTS ini termasuk peka maka harus dijaga dari faktor luar seperti udara dan cahaya. ABTS berubah warna dari biru ke hijau saat mendapat elektron antioksidan dan perubahan tidak ada lagi saat titik akhir reaksi (Sandhiutami et al., 2010).

2.7 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

DPPH adalah suatu senyawa radikal bebas stabil yang dapat dijadikan pereaksi untuk pengujian radikal bebas, DPPH ini stabil sangat lama sampai bertahun-tahun dengan catatan disimpan dengan penyimpanan yang baik dan kondisi kering, penggunaan DPPH hanya perlu dilarutkan saja. DPPH memiliki nilai abasorbansi antara 515-520 nm. (Vanselow, 2007). Reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH

yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas menjadi dasar metode perendaman radikal bebas oleh DPPH tersebut. Larutan DPPH akan tereduksi ketika bertemu dengan bahan pendonor, larutan DPPH yang berwarna ungu akan memudar dan berganti dengan gugus pikril yang berwarna kuning. (Prayoga, 2013).



Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Sumber : jurnal unpk.y.ac.id)

IC₅₀ yaitu kemampuan pada sampel yang dapat meredam 50% dari suatu radikal bebas dengan satuan (mikrogram/mililiter) dimana mampu menghambat 50% oksidasi. Perhitungan nilai konsentrasi efektif atau IC₅₀ menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{(Ac - A)}{Ac} \times 100\%$$

Ac = absorbansi kontrol

A = absorbansi sampel

Nilai aktivitas antioksidan pada IC₅₀ dikatakan tinggi atau kuat apabila kurang dari 50 ppm lalu kuat jika 50-100 ppm, dikatakan memiliki aktivitas sedang antara 100-150 dan dikatakan lemah jika aktivitas antioksidan memiliki nilai 151-200 ppm. (Badarinath, 2010).

2.8 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemisahan zat dari bahan asal maupun campuran yang menggunakan pelarut yang di sesuaikan dengan senyawa yang mau diambil. Pemilihan pelarut dari sifat senyawa dan sifat bahan.

Beberapa target ekstraksi yaitu (Sarker SD, dkk., 2006) :

- Tidak diketahui senyawa bioaktif
- Suatu organisme yang diketahui ada senyawa
- secara struktural diketahui ada beberapa senyawa pada organisme

Sumber yang tidak dihasilkan oleh sumber lain dengan kontrol yang berbeda pada semua senyawa pada hasil metabolitnya. Studi metabolomik dan studi sidik jari menjadi identifikasi semua metabolit sekunder di suatu organisme tersebut.

Berikut proses ekstraksi dari suatu tumbuhan :

- a. Penggilingan bagian tumbuhan, pengeringan dan bagian tumbuhan seperti daun bunga, dll yang di kelompokkan
- b. Pemilihan pelarut
- c. Pelarut polar : metanol, air, etanol, butanol
- d. Pelarut semipolar : diklomertan, etil -asetat dll
- e. Pelarut nonpolar : kloroform, n heksan, petroleum eter, dll

2.8.1 Ekstraksi Metode Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang digunakan di skala industri dan skala kecil karena metode ini sederhana (Agoes, 2007). Dilakukan dengan cara suatu serbuk tanaman yang dimasukkan dan pelarutnya yang sesuai pada wadah yang ditutup dengan rapat dan suhunya yaitu suhu kamar, dan di hentikan saat ada kesetimbangan konsentrasi dalam sel tumbuhan dan dalam pelarut. Lalu dipisah antara sampel dan penyaring setelah ekstraksi. Metode maserasi ini menghabiskan banyak waktu dan berpotensi kehilangan beberapa senyawa dan juga tidak semua senyawa mudah di ekstraksi pada suhu kamar yang menjadikan hal tersebut menjadi kekurangan dari metode maserasi ini. Tapi maserasi ini bisa digunakan pada senyawa yang bersifat termolabil.

2.9 Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia adalah tahap awal seleksi untuk melihat golongan senyawa kimia yang ada di tumbuhan atau ekstrak. Istilah fitokimia dilihat dari kandungan kimia di tumbuhan yang dasarnya termasuk kimia bahan alam. Agar dapat menguraikan kandungan kimia sebagai metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai obat dalam tanaman maka perlu dilakukan penapisan fitokimia.

2.9.1 Alkaloid

Alkaloid banyak ditemukan pada macam-macam tumbuhan dan hampir semuanya berasal dari tumbuhan yang juga menjadi golongan organik paling banyak ditemukan di alam. Alkaloid memiliki minimal satu atom N basa sebagai bagian dari cincin heterosiklik, ini yang menjadi ciri khas alkaloid. Bewarna putih dan memiliki bentuk padatan adalah bentuk dari senyawa alkaloid ini tetapi ada juga yang bewarna kuning seperti serpentin lalu berupa cairan seperti nikotin dan alkaloid bersifat tidak basa seperti risinin dan kolkisin (Hanani, 2016).

2.9.2 Flavonoid

Flavonoid dimasukkan dalam senyawa polifenol karena mengandung gugus hidroksil dua atau lebih yang larut dalam basa dikarenakan bersifat agak asam, tersebar di alam dan dapat ditemui bentuk glikosida dengan cukup sering. Flavonoid. Senyawa ini merupakan zat warna pada tanaman seperti warna merah, biru, ungu, dll, tetapi juga berfungsi mengatur fotosintesis, mengatur tumbuhan dan antiinsektisida pada tumbuhan. Pada manusia berfungsi untuk antivirus dan antimikroba (Hanani, 2016).

2.9.3 Steroid/Terpenoid

Senyawa ini biasanya dihasilkan dari ekstraksi simplisia tumbuhan dengan pelarut non polar sedangkan jika berbentuk glikosida yaitu dari triterpen maka kelarutannya lebih larut dalam polar (Hanani,2016).

2.9.4 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang tersebar pada tumbuhan dan dalam jaringan kayu yaitu batang, kulit pada beberapa tanaman dan juga ada pada jaringan lainnya seperti buah dan daun. Berbentuk amorf sehingga terjadi koloid dalam air yang memberikan rasa sepat, dimanfaatkan sebagai mencegah peradangan lalu obat diare dan antidotum saat keracunan alkaloid dan juga dimanfaatkan sebagai antiseptik karena terdapat gugus fenol (Hanani,2016).

2.9.5 Saponin

Saponin tidak larut eter tetapi larut dalam air dan menghasilkan aglikon jika dihidrolisis. Memiliki bobot molekul yang tinggi pada beberapa tumbuhan, dengan molekul gula yang terikat pada alkaloid atau aglikon triterpen sehingga membentuk glikosida. Saponin bersifat racun yang bisa menyebabkan hemodialisis (Hanani,2016).

2.10 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode untuk pemisahan senyawa dengan menggunakan pelarut atau fase gerak sesuai, fase gerak akan bergerak pada fase diam sedangkan fase diam itu sendiri adalah lapisan seragam di permukaan datar dan dilapisi oleh plat alumunium, kaca ataupun plastik. KLT dilakukan pada wadah tertutup berupa bejana yang dapat menyimpan plat, bercak yang ditotolkan menggunakan pipa kapiler sebanyak 1-10 μ l. Melihat senyawa hasil dari KLT dilihat dari sinar untra violet (UV) 254 dan 366 nm.

Mekanisme KLT adalah partisi dan absorbansi, fase gerak yang digunakan biasanya berdasarkan penelitian sebelumnya ataupun dari pustaka sedangkan silika dan juga selulosa sebagai fase diam.. Sistem yang digunakan biasanya campuran dua pelarut yang organik karena daya elusi dari dua pelarut ini gampang diatur sehingga pemisahan menjadi efektif dan optimal.

KLT bisa digunakan sebagai analisis kuantitatif, kualitatif ataupun preparatif. Analisis kualitatif menggunakan Rf sebagai parameter untuk mengidentifikasi senyawa sedangkan analisis kuantitatif bertujuan untuk mencari kadar dari senyawa yang diuji lalu analisis preparatif bertujuan untuk memisahkan analit dengan jumlah besar agar bisa dilanjutkan pada analisis selanjutnya seperti teknik kromatografi lainnya.