



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK JAMUR
Pleurotus ostreatus DENGAN METODE DPPH DAN
IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA DARI
FRAKSI TERAKTIF**

SKRIPSI

**IRNA RINI MUTIA SARI
0906601840**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM SARJANA EKSTENSI FARMASI
DEPOK
JANUARI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK JAMUR
Pleurotus ostreatus DENGAN METODE DPPH DAN
IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA DARI
FRAKSI TERAKTIF**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Ekstensi Farmasi**

**IRNA RINI MUTIA SARI
0906601840**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM SARJANA EKSTENSI FARMASI
DEPOK
JANUARI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Irna Rini Mutia Sari

NPM : 0906601840

Tanda Tangan : 

Tanggal : 19 Januari 2012

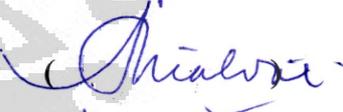
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Irna Rini Mutia Sari
NPM : 0906601840
Program Studi : Sarjana Ekstensi Farmasi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Jamur
Pleorotus ostreatus dengan metode DPPH dan
Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi
Teraktif.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Ekstensi Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt ()
Pembimbing II : Dr. Katrin MS., Apt ()
Penguji : Dra. Azizahwati, MS ()
Penguji : Drs. Umar Mansur M.Sc ()
Penguji : Dr. Iskandarsyah M.Si., Apt. ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 25 Januari 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT yang maha pengasih dan penyayang serta senantiasa mencurahkan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mengikuti ujian Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

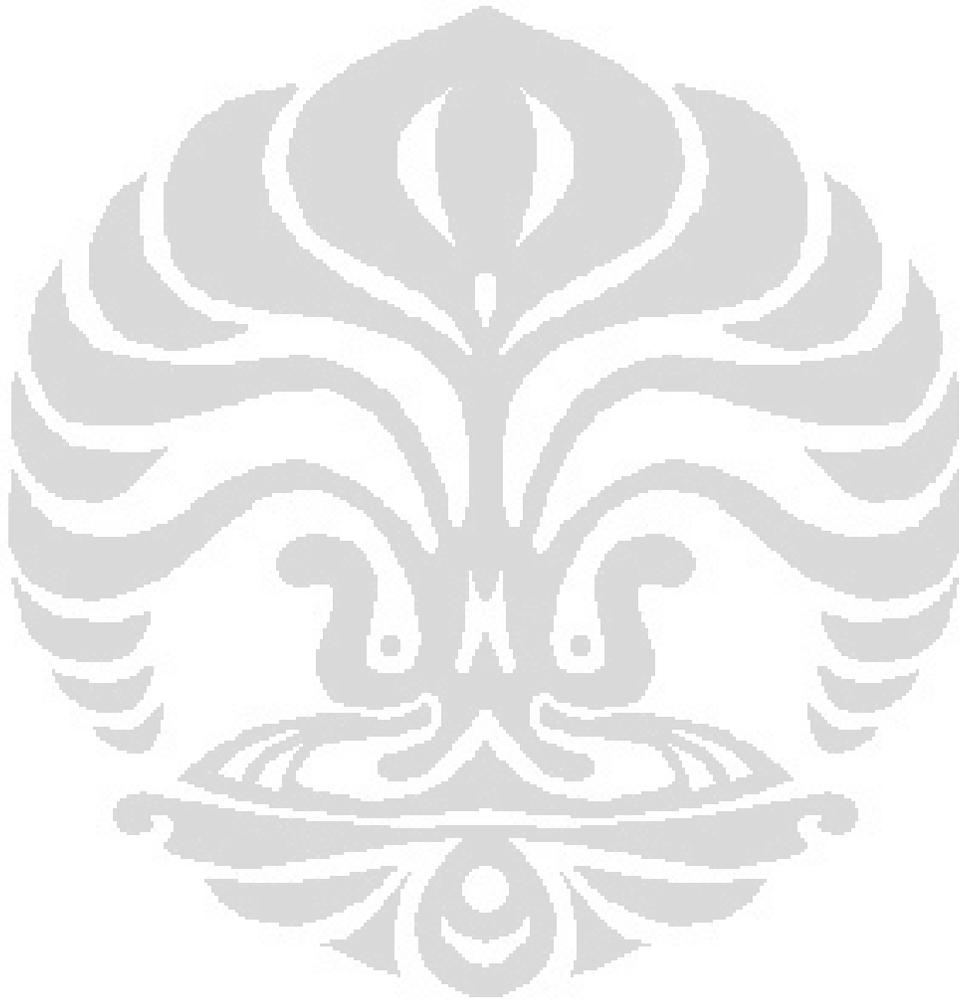
1. Ibu Dr. Berna Elya, M.Sc., Apt., selaku pembimbing I yang dengan sabar membimbing, memberi saran, bantuan juga semangat selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.
2. Ibu Dr. Katrin MS., Apt., selaku pembimbing II dan pembimbing Akademik yang dengan sabar membimbing, memberi saran, bantuan juga semangat selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini serta telah memberikan motivasi dan semangat dalam menjalani perkuliahan di Farmasi..
3. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., selaku Ketua Departemen Farmasi.
4. Ibu Dra. Azizahwati M.S., Apt. selaku ketua Program Ekstensi Farmasi yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama kami menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Seluruh dosen/staf pengajar di Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu dan didikan yang telah diberikan selama ini.
6. Keluarga besarku, Bapak Rachmat, Ibu Endang, dan Benny adikku yang tercinta, yang selalu memberikan segala dukungan baik semangat, doa dan pengharapan serta tanpa kerja keras beliau, saya tidak dapat mengenyam pendidikan tinggi.
7. Sahabat-sahabatku, Nurlaila, siti marwah, Utami, Meilisa, Shintia, Angela, Anondini serta seluruh teman-teman Ekstensi 2009, yang telah memberikan keceriaan dalam hari-hariku.
8. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Penelitian Fitokimia Anju, riza, mba ayu, mely, iin, devi, silvi, kak ruth, kak aktsar, mba ulfa, dan mba era yang membuat penelitian ini mengasyikkan dan lebih mudah untuk dijalani.

9. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Fitokimia, Farmasetika, Farmakologi, serta Pak Ma'ruf dan Pak Suroto, atas dukungan, kerjasama serta pengertiannya selama penelitian ini berlangsung.

Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan Farmasi pada khususnya.

Penulis

2011



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Irna Rini Mutia Sari
NPM : 0906601840
Program Studi : Ekstensi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Jamur *Pleorotus ostreatus* dengan metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : Januari 2011
Yang menyatakan



(Irna Rini Mutia Sari)

ABSTRAK

Nama : Irna Rini Mutia Sari
Program Studi : Ekstensi Farmasi
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Jamur *Pleurotus ostreatus* dengan metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif.

Pleurotus ostreatus adalah jenis jamur tiram yang banyak dikonsumsi dan hidup di Indonesia. Manfaat jamur tiram ini dapat juga digunakan sebagai antioksidan. Penelitian dilakukan untuk melakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak jamur *Pleurotus ostreatus* dengan metode DPPH dan identifikasi golongan senyawa kimia dari fraksi teraktif. Metode DPPH dengan cara mengukur daya peredaman ekstrak terhadap radikal stabil DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri dengan λ 517,5 nm. Untuk metode pemisahan digunakan kromatografi kolom dipercepat, dan pemeriksaan senyawa dilakukan dengan mengukur titik leleh dan KLT. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak etil asetat mempunyai nilai IC_{50} paling kecil 73,24 $\mu\text{g/ml}$ antara ekstrak n-heksan dan ekstrak metanol. Hasil kromatografi ekstrak etil asetat diperoleh fraksi A-H. Fraksi F menunjukkan aktivitas antioksidan terkuat dengan nilai IC_{50} 54,08 $\mu\text{g/mL}$ dan positif pada uji terpenoid dan saponin. Pada Fraksi B dilakukan rekristalisasi dan didapatkan senyawa murni yang disebut sebagai senyawa PO. Hasil identifikasi senyawa diduga bahwa senyawa PO merupakan suatu steroid. Selanjutnya senyawa PO dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan menunjukkan aktivitas antioksidan kurang kuat dengan nilai IC_{50} 121,19 $\mu\text{g/mL}$.

Kata Kunci : *Pleurotus ostreatus*, antioksidan, DPPH, Steroidl.
xiv + 75 Halaman : 21 Gambar, 19 Tabel, 15 Lampiran
Bibliografi : 48 (1958-2009)

ABSTRACT

Name : Irna Rini Mutia Sari
Study Program : Farmasi Extension
Title : Test antioxidant activity of an extract fungi pleurotus ostreatus with the methods dpph and identification the chemical compounds of a fraction strongest

Pleurotus ostreatus is a type of oyster mushroom which is widely consumed and living in Indonesia. Benefits of Oyster Mushrooms can also be used as an antioxidant. Research is done to perform a Test antioxidant activity of an extract fungi pleurotus ostreatus with the methods dpph and identification the chemical compounds of a fraction strongest. a DPPH with measuring stable extract power to against radical DPPH (1,1-diphenyl-2 pikrilhidrazil) by spektrofotometri with λ 517,5 nm. To a method of separation used column chromatography accelerated, and characterizing a compound of done by measuring the melting point and TLC. Test results show antioxidant activity extract ethyl acetate has an IC_{50} value of most small 73,24 $\mu\text{g/mL}$ between n-heksan extract and methanol extract. Fraction F shows the strongest antioxidant activity with IC_{50} values of 54,08 $\mu\text{g/mL}$ and positive tests terpenoid and saponin. There is A-H fraction of the results column chromatography. On a fraction B done a recrystallization and obtained a compound of pure known as a compound po. Results of identification compound is suspected that the PO is a steroid compound. next a compound of po in do a test of antioxidant activity with the methods of dpph and shows antioxidant activity less strong with the value IC_{50} 121,19 $\mu\text{g/mL}$.

Keyword : *Pleurotus ostreatus*, antioksidan, DPPH, Steroid.
xiv + 75 Pages : 21 Figures, 19 Tabels, 15 Appendiks
Bibliography : 48 (1958-2009)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Klasifikasi.....	4
2.2. Morfologi.....	4
2.3. Ekologi, Penyebaran, dan Budidaya.....	5
2.4. Kandungan Kimia.....	6
2.5. Simplisia.....	6
2.6. Metode Ekstraksi	7
2.7. Fraksinasi.....	9
2.8. Antioksidan	13
2.9. Radikal Bebas.....	17
2.10. Penapisan Fitokimia.....	18
3. METODE PENELITIAN	22
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2. Bahan	22

3.3. Peralatan	22
3.4. Cara Kerja	23
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1. Penyiapan Bahan	33
4.2. Ekstraksi	33
4.3. Uji Antioksidan Ekstrak	34
4.4. Penapisan Fitokimia	37
4.5. Pemurnian Fraksi etil asetat.....	37
4.6. Antioksidan Fraksi dan Senyawa Murni	38
4.7. Penapisan Fitokimia pada fraksi Teraktif.....	40
5. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1. Kesimpulan	41
5.2. Saran	41
DAFTAR ACUAN	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Pleurotus ostreatus</i>	5
2.1.1 Tempat tumbuh <i>Pleurotus ostreatus</i>	46
2.1.2 Tudung dan tangkai <i>Pleurotus ostreatus</i>	46
3.1 Bagan Alur Ekstraksi Jamur <i>Pleurotus ostreatus</i>	30
3.2 Bagan Alur Pemurnian Ekstrak Etil Asetat.....	31
4.3.1 Mekanisme Penangkapan Radikal DPPH	36
4.3.1.1 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Quersetin	47
4.3.1.2 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration MeOH	47
4.3.1.3 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration n-Heksan	48
4.3.1.4 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Etil asetat ...	48
4.3.1.5 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration MeOH	
Partisi	49
4.7.1.1 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Quersetin	49
4.7.1.2 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration isolat PO	50
4.7.1.3 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi A	50
4.7.1.4 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi B	51
4.7.1.5 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi C	51
4.7.1.6 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi D	52
4.7.1.7 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi E	52
4.7.1.8 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi F	53
4.7.1.9 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi G	53
4.7.1.10 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Inhibitor Concentration Fraksi H	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Data Rendemen Ekstrak	34
4.3.1 Hasil Uji Antioksidan Ekstrak	35
4.3.1.1 Tabel Data konsentrasi dan serapan Quersetin.....	55
4.3.1.2 Tabel Data konsentrasi dan serapan ekstrak MeOH kasar.....	55
4.3.1.3 Tabel Data konsentrasi dan serapan n-Heksan.....	55
4.3.1.4 Tabel Data konsentrasi dan serapan Etil asetat.....	56
4.3.1.5 Tabel Data konsentrasi dan serapan MeOH.....	56
4.4 Hasil Penapisan Fitokimia	37
4.7.1 Data Uji Antioksidan Fraksi dan Senyawa Murni	45
4.7.1.1 Tabel Data konsentrasi dan serapan Quersetin.....	57
4.7.1.2 Tabel Data konsentrasi dan serapan Isolat PO.....	57
4.7.1.3 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr A.....	57
4.7.1.4 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr B.....	58
4.7.1.5 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr C.....	58
4.7.1.6 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr D.....	58
4.7.1.7 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr E.....	59
4.7.1.8 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr F.....	59
4.7.1.9 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr G.....	59
4.7.1.10 Tabel Data konsentrasi dan serapan Fr H.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi <i>Peurotus ostreatus</i>	61
Lampiran 2. Penyemprotan Ekstrak dengan DPPH.....	62
Lampiran 3. Penyemprotan Ekstrak dengan DPPH.....	63
Lampiran 4. Profil KLT	64
Lampiran 5. Profil KLT	65
Lampiran 6. KLT identifikasi senyawa PO.....	66
Lampiran 7. Lampiran 7. Spektrum Serapan Larutan DPPH 25 µg/mL Dalam Metanol.....	67
Lampiran 8. Spektrum Serapan Larutan DPPH dengan Ekstrak Etil asetat 7 µg/mL Dalam Metanol	68
Lampiran 9. Spektrum Serapan Larutan DPPH dengan Ekstrak Etil asetat 7 µg/mL Dalam Metanol	69
Lampiran 10. Hasil uji penapisan fitokimia.....	70
Lampiran 11. Hasil uji penapisan fitokimia.....	71
Lampiran 12. Hasil uji penapisan fitokimia.....	72
Lampiran 13. Hasil uji penapisan fitokimia.....	73
Lampiran 14. Hasil uji penapisan fitokimia.....	74
Lampiran 15. Hasil uji penapisan fitokimia.....	75

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Indonesia yang kaya dengan flora dan fauna memiliki potensi yang besar dalam pemanfaatan obat-obat herbal. Kebanyakan masih belum dieksplorasi dan sangat potensial untuk sumber obat (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000). Sebagai negara megabiodiversitas, masih banyak potensi hutan Indonesia yang belum digali untuk dikembangkan sebagai sumber fitofarmaka atau obat modern (Wahyuningsih et al., 2008). Peluang eksplorasi tanaman obat masih sangat terbuka luas sejalan dengan semakin berkembangnya industri jamu, obat herbal, dan fitofarmaka. Berdasarkan manfaat yang sudah ada, baik teruji secara empiris atau klinis, potensi sumber bahan alam yang terdapat di bumi Indonesia perlu digali. Dengan semaksimal mungkin dimanfaatkan dalam penyelenggaraan upaya-upaya kesehatan masyarakat (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

Jamur adalah organisme yang tidak berklorofil sehingga jamur tidak dapat menyediakan makanannya sendiri dengan cara fotosintesis seperti pada tanaman yang berklorofil. Oleh karena itu, di dalam pertumbuhannya jamur memerlukan zat-zat nutrisi yang siap untuk digunakan atau diserapnya. Di alam, zat-zat nutrisi tersebut biasanya telah tersedia dari proses pelapukan oleh aktivitas mikroorganisme (Muchroji dan Cahyana, 2008).

Dalam kehidupan sehari-hari jamur telah dimanfaatkan untuk obat dan makanan. Jamur hanya tumbuh pada waktu tertentu, pada kondisi tertentu, dan lama hidupnya terbatas. Sebagai contoh, jamur banyak muncul pada musim hujan di kayu-kayu lapuk maupun tumpukan jerami. Namun, jamur ini segera mati setelah musim kemarau tiba. Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, manusia telah mampu membudidayakan jamur dalam medium buatan, misalnya jamur merang, jamur tiram, dan jamur kuping.

Ciri-ciri jamur berbeda dengan organisme lainnya dalam struktur tubuh, pertumbuhan, dan reproduksinya. Simbiosis mutualisme jamur dengan tanaman dapat dilihat pada bermacam-macam habitatnya dan dapat berasosiasi dengan banyak organisme lain.

Jamur tiram merupakan salah satu jenis jamur kayu, karena jamur ini banyak tumbuh pada media kayu yang sudah lapuk. Disebut jamur tiram atau *oyster mushroom* karena bentuk tudungnya membulat, lonjong, dan melengkung seperti cangkang tiram. Batang atau tangkai tidak berada pada tengah tudung, tetapi agak miring ke pinggir. Jamur tiram terdiri jamur tiram putih, kuning, dan pink (Muchroji dan Cahyana, 2008).

Jamur tiram memiliki sifat yang dapat menetralkan racun dan zat-zat radio aktif dalam tanah. Manfaat jamur tiram yang lain di bidang kesehatan adalah untuk menghentikan pendarahan dan mempercepat pengeringan luka pada permukaan tubuh, mencegah penyakit diabetes mellitus dan penyempitan pembuluh darah, menurunkan kolesterol darah, menambah vitalitas dan daya tahan tubuh, serta mencegah penyakit tumor atau kanker, kelenjar gondok dan influenza, sekaligus memperlancar buang air besar (Fairuzah et al., 2008).

Berbagai penyakit yang telah diteliti dan diduga kuat berkaitan dengan aktivitas radikal bebas. Penyakit-penyakit tersebut mencakup lebih dari 50 kelainan seperti stroke, asma, pankreatitis. Berbagai penyakit radang usus, penyumbatan kronis pembuluh darah di jantung, penyakit parkinson, sel sickle leukemia, artritis rematoid, perdarahan otak, tekanan darah tinggi, dan AIDS. Sebenarnya radikal bebas ini penting artinya bagi kesehatan dan fungsi tubuh jika jumlahnya tidak berlebihan atau dalam keadaan seimbang. Saat tubuh kita dipenuhi radikal bebas berlebihan maka molekul yang tidak stabil yang berada didalam tubuh kita berubah bentuk menjadi molekul pemangsa. Mereka mulai bergerak liar dan menyerang bagian tubuh yang sehat maupun yang tidak sehat sehingga terjadi penyakit. Untuk memperbaiki keadaan ini tubuh kita membentuk suatu perlawanan radikal bebas yang dikenal sebagai antioksidan endogen. Antioksidan endogen ini akan menetralkan radikal bebas yang berlebihan itu sehingga tidak merusak tubuh. Enzim antioksidan alami dalam tubuh manusia yaitu superoksid dismutase yang saat ini disingkat SOD. Sedangkan antioksidan yang kita makan dari luar melalui makanan atau melalui suplemen makanan untuk membantu tubuh melawan kelebihan radikal bebas, kita sebut antioksidan eksogen yang mencakup beta karoten, vitamin C, vitamin E, zinc (Zn), dan selenium (Se) (Mau, J. L., Lin, H.C and S.F Song, (2002).

Penelitian yang telah dilakukan terhadap jamur *Pleurotus ostreatus* terbukti sangat baik bagi pencernaan, Antitumor, dan antioksidan. Metode yang dilakukan untuk pengujian aktivitas antioksidan pada jamur *Pleurotus ostreatus* dengan beberapa sistem tes yaitu DPPH (difenil pikrilhidrazil), ABTS *scavenging* radikal bebas, total fenolik dan konsentrasi total flavonoid. Berdasarkan Penelitian sebelumnya diketahui *Pleurotus ostreatus* memiliki potensi aktivitas antioksidan yang baik (Radhika R. et al, 2008).

Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi kandungan kimia dan pengujian aktivitas antioksidan pada Jamur *Pleurotus ostreatus*. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan secara maserasi dengan pelarut metanol. Dilakukan fraksinasi ekstraksi cair – cair pengocokan menggunakan corong pisah dengan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Setiap ekstrak kemudian diukur daya antioksidannya yang kemudian dibandingkan dengan satu sama lain. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar, kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis (KLT), fraksi teraktif yang diperoleh kemudian diidentifikasi.

Pemisahan senyawa dilakukan dengan cara kromatografi kolom yang dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT), dilanjutkan dengan pemurnian senyawa hasil isolasi dengan cara rekristalisasi. Identifikasi senyawa dilakukan dengan KLT (Harbone, J.B., 1987). Kemudian Isolat yang telah diperoleh dilakukan uji aktivitas antioksidannya.

1.2. TUJUAN

Tujuan penelitian ini adalah melakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak jamur *Pleurotus ostreatus* dengan metode DPPH dan identifikasi golongan senyawa kimia dari fraksi teraktif.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. KLASIFIKASI

Taksonomi jamur tiram putih adalah sebagai berikut (Alexopoulos, C. J., and C. J., Mims., 1979) :

Super Kerajaan	: Eukaryota
Kerajaan	: Myceteae
Divisi	: Amastigomycota
Subdivisi	: Eumycota
Kelas	: Basidiomycetes
Sub kelas	: Holobasidiomycetidae
Bangsa	: Agaricales
Suku	: Agaricaceae
Marga	: Pleurotus
Jenis	: <i>Pleurotus ostreatus</i>

2.2. MORFOLOGI

Ditinjau dari segi morfologinya, tubuh jamur tiram terdiri dari tudung (pileus) dan tangkai (stipe). Pileus berbentuk mirip cangkang telinga dengan ukuran diameter 5 – 15 cm dan permukaan bagian bawah berlapis-lapis seperti insang berwarna putih dan lunak yang berisi basidiospora. Bentuk pelekatan lamella ini adalah memanjang sampai ke tangkai atau disebut didirent . Sedangkan tangkainya dapat pendek atau panjang (2 – 6 cm) tergantung pada kondisi lingkungan dan iklim yang mempengaruhi pertumbuhannya. Tangkai ini yang menyangga tudung agak lateral (di bagian tepi) atau eksentris (agak ke tengah) (Alexopoulos, C. J., and C. J., Mims., 1979).



Gambar 2.1. Jamur *Pleurotus ostreatus*

2.3. EKOLOGI, PENYEBARAN , DAN BUDIDAYA

Jamur tiram tersebar luas hutan beriklim subtropis di seluruh dunia, meskipun tidak terdapat dari Amerika Utara, digantikan oleh *P. pulmonarius* dan *P. populinus*. Jamur tiram adalah salah satu dari beberapa jamur kayu (Ammirati.J, 2009).

Di alam bebas, jamur tiram bisa dijumpai hampir sepanjang tahun di hutan pegunungan daerah yang sejuk. Tubuh buah terlihat saling bertumpuk di permukaan batang pohon yang sudah melapuk atau pokok batang pohon yang sudah ditebang. Pembudidayaan jamur tiram biasanya dilakukan dengan media tanam serbuk gergaji. Selain campuran pada berbagai jenis masakan, jamur tiram merupakan bahan baku obat statin (Hossain S, Hashimoto M, Choudhury EK, et al. 2003).

2.4. KANDUNGAN KIMIA

Jamur tiram putih mengandung protein sebanyak 19 – 35 % dari berat kering jamur, dan karbohidrat sebanyak 46,6 – 81,8 %. Selain itu jamur tiram mengandung vitamin atau vit. B1, riboflavin atau vit. B2, niasin, biotin serta beberapa garam mineral dari unsur-unsur Ca, P, Fe, Na, dan K dalam komposisi yang seimbang. Bila dibandingkan dengan daging ayam yang kandungan proteinnya, lemaknya, namun karbohidratnya tidak ada, maka kandungan gizi jamur masih lebih lengkap sehingga tidak salah apabila dikatakan jamur merupakan bahan pangan masa depan. Macam asam amino yang terkandung dalam jamur tiram adalah alanin, arginin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glutamina, glisin, histidin, isoleusin, lisin, metinin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, triptofan, tirosin, dan valin (Akindahunsi AA, Oyetayo FL., 2006).

2.5. SIMPLISIA (Dirjen POM DepKes RI, 2000)

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apa pun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat Tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni.

Simplisia sebagai produk hasil pertanian atau pengumpulan tumbuhan liar (*wild crop*) tentu saja kandungan kimianya tidak dapat dijamin selalu ajeg (konstan) karena disadari adanya variabel bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umum dan cara) panen, serta proses pascapanen dan preparasi akhir. Walaupun ada juga yang berpendapat bahwa variabel tersebut tidak berakibat besar pada mutu ekstrak nantinya. Variabel tersebut juga dapat dikompensasi dengan penambahan/pengurangan bahan setelah sedikit prosedur analisis kimia dan sentuhan inovasi teknologi farmasi lanjutan sehingga tidak berdampak banyak pada khasiat produksi. Usaha untuk menjaga variabel tersebut dianggap sebagai usaha untuk menjaga mutu simplisia.

Dalam hal simplisia sebagai bahan baku (awal) dan produk siap dikonsumsi langsung, dapat dipertimbangkan tiga konsep untuk menyusun parameter standar mutu yaitu sebagai berikut :

- a. Bahwa simplisia sebagai bahan kefarmasian seharusnya mempunyai tiga parameter mutu umum suatu bahan (material), yaitu kebenaran jenis (identifikasi), kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis), serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan dan transportasi).
- b. Bahwa simplisia sebagai bahan dan produk konsumsi manusia sebagai obat tetap diupayakan memiliki tiga paradigma seperti produk kefarmasian lainnya, yaitu *Quality-Safety-Efficacy* (mutu-aman-manfaat).
- c. Bahwa simplisia sebagai bahan dengan kandungan kimia yang bertanggungjawab terhadap respons biologis untuk mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar) senyawa kandungan.

2.6. METODE EKSTRAKSI

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dengan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes, 1995).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Dirjen POM Depkes RI, 2000).

Ekstraksi adalah kegiatan penarik kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak bias larut dengan pelarut cair. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian

berdifusi masuk ke dalam pelarutan (Harborn, 1987). Adapun metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut, terdiri dari (Dirjen POM Depkes RI, 2000):

2.5.1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan peyarian maserat pertama dan seterusnya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai perkolat yang jumlahnya 1-5 kali jumlah bahan.

2.5.2. Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur pada 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 proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, secara umum dilakukan pada temperatur 40-50° C.

2.5.1.4. Infusa

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 96°-98°C selama waktu 15-20 menit di penangas air, dapat berupa bejana infus tercelup dalam penagas air mendidih.

d. Dekokta

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^{\circ}\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air.

2.7. FRAKSINASI

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan *n*-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses fraksinasi ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga. Tiap-tiap fraksi diuapkan sampai kental dengan penguapan putar pada suhu kurang lebih 50°C .

Metode yang umumnya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa yaitu metode kromatografi. Untuk tujuan kualitatif dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT) sedangkan untuk pemisahan senyawa dalam jumlah besar dapat digunakan kromatografi kolom.

2.7.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah metode pemisahan campuran menjadi berbagai komponennya berdasarkan keseimbangan heterogen yang terjadi selama Bergeraknya pelarut yang disebut fase gerak melewati fase diam untuk memisahkan dua atau lebih komponen dari materi yang dibawa oleh pelarut. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan sedangkan fase gerak dapat berupa cairan atau gas.

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penyerapan, partisi atau gabungannya. KLT merupakan salah satu teknik kromatografi yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif senyawa organik, isolasi senyawa tunggal dari campuran multikomponen, analisis kuantitatif dan isolasi skala preparatif. Teknik KLT sangat bermanfaat untuk analisis obat dan bahan lain dalam laboratorium karena hanya memerlukan peralatan sederhana,

waktu yang cukup singkat, dan jumlah zat yang diperiksa cukup kecil (Stahl, 1969;Harmita, 2006).

2.7.1.1. Fase Diam

Fase diam adalah lapisan tipis penyerapan yang seragam atau media terpilih digunakan sebagai media pembawa. Penjerap dilekatkan pada penyangga sebagai pelapis untuk mendapatkan lapisan yang stabil dengan ukuran yang sesuai. Penyangga yang sering digunakan adalah lempeng gelas juga lembaran plastik dan almunium, sedangkan penjerap yang paling sering digunakan antara lain silica gel, alumina, kieselguhr dan selulosa (Touchstone, J.C., M.F. Dobbins.,1983).

Ukuran standar untuk lempeng KLT adalah 20 x 20 cm. Ukuran lainya dari lempeng antara lain 5 x 20 cm, 10 x 20 cm dan 20x40 cm. Lempeng mikro dapat dibuat dari slide mikroskop (Gritter,Bobbit dan Schwarting,1991).

Lapis tipis dapat mengandung indikator fluorosensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tak berwarna pada lapisan yang telah dikembangkan. Jadi lapisan yang mengandung indikator fluorosensi akan berpendar jika disinari pada panjang gelombang yang tepat. Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau mengandung cincin aromatik, maka sinar UV yang mengeksitasi tidak akan mencapai indikator fluorosensi dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya berupa bercak gelap dengan latar belakang yang berfluorosensi. Indikator terkandung pada penjerap dengan konsentrasi 1% (Gritter, Bobbit dan Schwarting, 1991).

2.7.1.2. Fase Gerak

Sifat dan komposisi kimia fase gerak ditentukan oleh jenis zat yang dipisahkan dan jenis penjerap yang digunakan untuk pemisahan. Komposisi fase gerak dapat berupa pelarut murni maupun campuran kompleks dari beberapa pelarut (Touchstone, J.C., M.F. Dobbins.,1983).

Seluruh senyawa organik termaksud pelarut digolongkan menurut kemampuan dasarnya untuk membuat ikatan hidrogen. Ada pelarut yang merupakan donor atau aseptor pasangan elektron dan mempunyai kemampuan untuk membentuk jembatan intermolekular (hidrofilik dan pelarut polar) ataupun pelarut yang tidak mempunyai kemampuan tersebut (lipofilik, hidrofilik, pelarut

non polar). diantara perbedaan ekstrem tersebut terdapat pelarut dengan polaritas sedang. (Gritter, Bobbit dan Schwarting, 1991).

2.7.1.3. Penyiapan dan Penotolan sampel

Beberapa cara penyiapan sampel dilakukan dengan mempreparasi sampel untuk dianalisis secara kromatografi. Cara tersebut dapat berupa pelarutan sampel, ekstraksi, kromatografi kolom, sentrifugasi dan penguapan. Cara tersebut kadang dilakukan bersamaan untuk mendapatkan sampel yang sesuai untuk kromatografi. Untuk sampel berupa ekstrak, penyiapan dapat dilakukan dengan kromatografi kolom dan partisi pelarut (Touchstone, J.C., M.F. Dobbins., 1983).

Sampel dilarutkan pada pelarut yang sesuai. Larutan sampel yang ditotolkan umumnya antara 0,1 hingga 1 % sebanyak 1 hingga 20 μ L. Pelarut yang sangat polar atau tidak menguap sebaiknya tidak digunakan pada KLT untuk melarutkan sampel. Hal ini akan menghasilkan titik yang besar dan kromatogram cincin. Jika memang benar-benar diperlukan, gunakan volume yang sangat kecil dan diaplikasikan dengan baik kemudian pelarut dihilangkan dengan bantuan udara hangat. Hal ini harus dilakukan dengan hati-hati untuk memastikan zat tidak mengkristal pada garis mulai. Jika ini terjadi, akan terjadi kromatogram dari garis mulai ke garis depan (Stahl, 1969).

Campuran dilarutkan dan ditotolkan pada garis awal berupa titik atau pita. Penotolan berupa titik sebaiknya memiliki diameter antara 2 mm dan paling besar 5 mm (Stahl, 1969).

2.7.1.4. Pengembangan

Setelah sampel ditotolkan pada salah satu ujung lempeng, ujung tersebut dibenamkan dalam fase gerak dengan sampel di atas cairan. Gaya kapiler akan menyebabkan fase gerak bergerak melewati media dalam proses yang disebut pengembangan. Setelah fase gerak telah hampir mencapai ujung lainnya dari lempeng, maka lempeng dipindahkan dan dikeringkan sebelum prosedur pendeteksian. Pengembangan lapis tipis biasanya dilakukan dengan membiarkan fase gerak bermigrasi pada lempeng yang mana berada pada bejana dengan ukuran sesuai yang telah dijenhkan (Touchstone, J.C., M.F. Dobbins., 1983).

2.7.1.5. Metode Deteksi

Bercak yang terpisah dapat diamati dengan beberapa cara setelah lempeng dikeringkan. Cara untuk mendeteksi bercak terdiri dari dua macam yaitu metode kimia dan metode fisik. Dari kedua jenis tersebut, masing-masing dapat dibedakan lagi menjadi dua macam yaitu metode destruktif (tidak memberikan perubahan permanen pada identifikasi kimia zat). Contoh untuk metode kimia destruktif adalah pengurangan dengan asam sulfat, sedangkan metode non-destruktif adalah dengan uap iodin. Contoh untuk metode fisik adalah pengamatan di bawah sinar UV banyak digunakan dan bersifat non-destruktif terhadap sebagian besar zat, walaupun pada beberapa vitamin dan steroid dapat bersifat destruktif (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Berdasarkan senyawa yang diperiksa, pemisahan pada lempeng selanjutnya dapat diperiksa dengan beberapa teknik. Jika zat berupa radioaktif atau dicurigai demikian maka bercak dapat dideteksi menggunakan scanner radioisotop. Dalam kondisi yang memungkinkan, juga dimungkinkan untuk mengukur daerah bercak dan menghitung densitasnya menggunakan fotodensitometer (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Derajat retensi dinyatakan dengan R_f yang digunakan untuk menyatakan posisi dari zat setelah pengembangan, dapat dihitung dengan (Stahl, 1969; Harmita, 2006):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh pusat bercak sampel (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

2.7.1.6. Kromatografi Kolom

Salah satu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar adalah menggunakan kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom fase diam yang digunakan dapat berupa silika gel, selulosa atau poliamida. Sedangkan fase geraknya dapat dimulai dengan pelarut non polar kemudian ditingkatkan kepolarannya secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal ataupun kombinasi dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai tingkat kepolaran yang dibutuhkan.

Frakasi yang diperoleh dari kolom kromatografi ditampung dan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari kolom kromatografi digabung kemudian pelarutnya diupayakan sehingga akan diperoleh

beberapa fraksi. Noda pada plat KLT dideteksi dengan lampu ultraviolet $\lambda_{254/366}$ untuk senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor, dengan penampakan noda seperti larutan Iod, FeCl_3 dan H_2SO_4 dalam metanol 10 %.

Senyawa hasil isolasi sulit didapatkan berupa senyawa murni karena terdiri dari banyak senyawa gabungan. Untuk senyawa berbentuk kristal permuniannya dapat dilakukan dengan rekristalisasi, yaitu berdasarkan perbedaan kelarutan antara zat utama yang dimurnikan dengan senyawa minor dalam suatu pelarut tunggal atau campuran dari pelarut yang cocok. Pelarut yang digunakan dipilih berdasarkan kemampuan melarutkan zat yang akan dimurnikan. Adanya perbedaan kelarutan akibat pemanasan atau penambahan pelarut lain akan menyebabkan senyawa utama akan mengkristal lebih dahulu. Proses rekristalisasi ini diulang beberapa kali sehingga didapatkan senyawa berbentuk kristal yang lebih murni dan ditandai dengan jarak leleh yang tajam.

2.8. ANTIOKSIDAN

Antioksidan adalah molekul yang berkemampuan memperlambat ataupun mencegah oksidasi molekul lain. Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi rantai, menyebabkan kerusakan sel tubuh. Antioksidan menghentikan reaksi berantai dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi lainnya dengan sendirinya teroksidasi. Oleh karena itu, antioksidan sering kali merupakan reduktor seperti senyawa tiol, asam askorbat, ataupun polifenol.

Antioksidan merupakan sebutan untuk zat yang berfungsi melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Yang termasuk ke dalam golongan zat ini antara lain vitamin, polipenol, karotin dan mineral. Secara alami, zat ini sangat besar peranannya pada manusia untuk mencegah terjadinya penyakit. Antioksidan melakukan semua itu dengan cara menekan kerusakan sel yang terjadi akibat proses oksidasi radikal bebas.

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Pokorni, 2001). Zat anti oksidan adalah substansi yang dapat menetralsir atau menghancurkan radikal bebas. Radikal bebas

merupakan jenis oksigen yang memiliki tingkat reaktif yang tinggi dan secara alami ada didalam tubuh sebagai hasil dari reaksi biokimia di dalam tubuh. Radikal bebas juga terdapat di lingkungan sekitar kita yang berasal dari polusi udara, asap tembakau, penguapan alkohol yang berlebihan, bahan pengawet dan pupuk, sinar Ultra Violet, X-rays, dan ozon. Radikal bebas dapat merusak sel tubuh apabila tubuh kekurangan zat anti oksidan atau saat tubuh kelebihan radikal bebas. Hal ini dapat menyebabkan berkembangnya sel kanker, penyakit hati, arthritis, katarak, dan penyakit degeneratif lainnya, bahkan juga mempercepat proses penuaan.

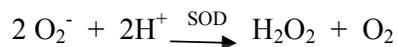
Radikal bebas dapat merusak membran sel serta merusak dan merubah DNA. Merubah zat kimia dalam tubuh dapat meningkatkan resiko terkena kanker serta merusak dan menonaktifkan protein. Antioksidan membantu menghentikan proses perusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan lagi mencuri elektron dari sel dan DNA. Proses yang terjadi sebenarnya sangat kompleks tapi secara sederhana dapat dilukiskan seperti itu. Antioksidan sangat beragam jenisnya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Antioksidan jenis ini seperti : Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat, dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ). Kandungan antioksidan tersebut berhubungan erat dengan komposisi senyawa kimia yang terdapat di dalamnya.

Antioksidan alami adalah antioksidan hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan. Beberapa tumbuhan memiliki kandungan antioksidan. Contoh antioksidan alami adalah asam askorbat, α -tokoferol, β -karoten, senyawa flavonoid, senyawa polifenol (liignin), serta asam nonhidroguaiarat (NDGA). Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan.

Antioksidan dapat pula digolongkan ke dalam antioksidan preventif yang akan mengurangi kecepatan dimulainya rangkaian reaksi preventif yang akan mengurangi kecepatan dimulainya rangkaian reaksi dan antioksidan pemutus rantai reaksi yang akan memutuskan perbanyakan reaksi yang berantai. Antioksidan

pemutus rantai seringkali berupa senyawa fenol, amin, dan amina-fenol. Antioksidan preventif umumnya merupakan antioksidan enzimatik mencakup enzim katalase, superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GSH Px). Mekanisme kerja masing-masing antioksidan enzimatik adalah sebagai berikut (Windono, T., 2001):

- a. Superoksida dismutase (SOD)



- b. Enzim Katalase



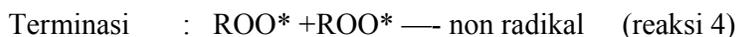
- c. Glutathion peroksidase (GSH Px)



Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Untuk mempermudah pemahaman tentang mekanisme kerja antioksidan perlu dijelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1). pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3) (Pokorni, 2001).



Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggungjawab atas flavor makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4)



2.8.1. METODE UJI ANTIOKSIDAN

Aktivitas antioksidan suatu senyawa kimia yang dapat dilakukan dengan beragam metode. Beberapa metode yang lazim digunakan antara lain :

a. Uji Konjugasi Diena

Dengan metode ini dapat dihitung konjugasi diena yang terbentuk akibat oksidasi yang terbentuk akibat oksidasi awal *Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA)*. Data diperoleh dengan mengukur absorpsi UV pada panjang gelombang 234 nm. Prinsip uji ini adalah pada waktu oksidasi asam linoleat, ikatan rangkap diubah menjadi ikatan rangkap konjugasi yang dapat di deteksi dengan adanya absorpsi UV pada panjang gelombang 234 nm. Aktivitas ini dapat dilihat dari konsentrasi inhibisi yang diperoleh.

b. FRAP (Ferric Reducing Ability Of Plasma)

Metode ini merupakan salah satu metode yang cepat dan sangat berguna untuk analisa rutin. Aktivitas antioksidan diperkirakan dengan mengukur peningkatan absorpsi akibat terbentuknya ion Fe dari pereaksi FRAP yang mengandung TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-5-triazin) dari $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada 595 nm.

c. Metode Fosfomolibdat

Metode ini digunakan untuk mengukur secara kuantitatif kapasitas antioksidan melalui terbentuknya kompleks fosfomolibdat. Uji ini berdasarkan reduksi Mo (VI) menjadi Mo (V) oleh sampel uji dan pembentukan kompleks fosfat Mo (V) berwarna hijau pada pH asam.

d. Reaksi ini dengan 1,1-Difenil-2-pikrihidrazil (DPPH)

Metode ini paling banyak digunakan dalam skrining aktivitas antioksidan pada tanaman obat. Uji DPPH berdasarkan reduksi larutan metanol dari radikal bebas DPPH oleh penghambat radikal bebas. Prosedur pengujian melibatkan pengukuran penurunan absorpsi DPPH pada panjang gelombang maksimum 517,5 nm. Penurunan ini sebanding dengan konsentrasi menghambat radikal bebas yang ditambahkan pada larutan DPPH. Aktivitas ditunjukkan dengan konsentrasi efektif yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50% (IC_{50}).

Selain empat metode tersebut, banyak metode lain yang dapat dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan. Metode tersebut antara lain metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfoniacid) garam diamonium), metode DMPD (N,N-Dimethyl-p-phenylene-diamine dihydrochloride), pengukuran aktivitas penghambatan radikal hidroksil, dan pengukuran aktivitas penghambatan radikal oksida nitrat.

pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH yang berdasarkan prinsip kerjanya pada sampel (mengandung senyawa bersifat antioksidan) yang dapat meredam radikal bebas (DPPH).

2.9. RADIKAL BEBAS

Radikal bebas merupakan atom, molekul atau senyawa yang sangat tidak stabil struktur atom ataupun molekulnya sehingga bersifat reaktif. Radikal bebas akan bereaksi dalam berbagai cara untuk membentuk molekul yang stabil.

Reaksi yang mungkin terjadi adalah :

- a. Radikal bebas berinteraksi dengan molekul lain yang memiliki atom hidrogen bebas sehingga radikal menjadi stabil sedangkan molekul yang mendonorkan hidrogen menjadi radikal bebas.
- b. Radikal bebas bereaksi satu sama lain untuk membentuk senyawa stabil.
- c. Dua senyawa radikal yang identik bereaksi dan salah satu radikal memberikan elektron kepada yang lain. Dengan demikian terbentuk dua molekul berbeda yang stabil.
- d. Radikal bebas berikatan dengan molekul yang stabil dan mengubah molekul yang diikat menjadi tidak stabil.

Salah satu senyawa yang erat kaitannya dengan radikal bebas adalah oksigen. Oksigen sangat berperan dalam berbagai reaksi biokimia tubuh. Namun oksigen ini juga merupakan awal dari terbentuknya radikal bebas yang lebih dikenal dengan nama *Reactive oxygen species* (ROS). Beberapa ROS yang dapat merugikan tubuh, yaitu anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH \cdot), hidrogen peroksida (H_2O_2), oksigen tunggal (1O_2), dan lain – lain (Prakash, A., Rigelhof, F., dan Miller, E., 2001).

ROS menyebabkan kerusakan terhadap berbagai unsur penting dalam tubuh. ROS menyerang dan merusak rantai asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting dari membran fosfolipid mitokondria, mikrosom, dan lisosom. Selain itu ROS bereaksi dengan protein yang mengakibatkan kerusakan dan inaktivasi reseptor, enzim, dan sebagainya. Lipoprotein dalam tubuh juga mengalami modifikasi yang memacu arterosklerosis (Windono, T., 2001).

ROS dapat berasal dari proses metabolisme tubuh atau faktor dari luar seperti radiasi, ozon, rokok, polusi udara dan industri kimia. Keberadaan radikal bebas yang berlebih dapat memicu kanker, inflamasi, arterosklerosis, rematik, jantung koroner, katarak, dan penyakit degeneratif lainnya. Resiko terkena penyakit ini dapat dikurangi dengan meningkatkan konsumsi antioksidan yang banyak terdapat pada makanan.

2.10. PENAPISAN FITOKIMIA

Salah satu pendekatan untuk penelitian tumbuhan obat adalah penapisan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman. Cara ini digunakan untuk mendeteksi senyawa tumbuhan berdasarkan golongannya. Sebagai informasi awal dalam mengetahui senyawa kimia apa yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman. Informasi yang diperoleh dari pendekatan ini juga dapat digunakan untuk keperluan sumber bahan yang mempunyai nilai ekonomi lain seperti sumber tannin, minyak untuk industri, dan sumber gum (Teyler, V.E, 1988).

Penapisan kimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Pemeriksaan diarahkan pada senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat bagi kesehatan, seperti alkaloid, senyawa fenol, flavonoid, glikosida, terpenoid, steroid, tanin dan saponin (Harborn, 1987).

2.10.1. Alkaloid

Pada umumnya alkaloid merupakan metabolit basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem berbentuk siklik, bereaksi dengan pereaksi alkaloid. Menurut sifatnya alkaloid umumnya memiliki sifat padat, walaupun ada yang cair (misalnya nikotina), memutar bidang polarisasi, larut dalam air ada yang tidak larut dalam pelarut organik, bersifat basa (N) dan terasa pahit. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara

mengekstraksi bahan tumbuhan memakai air yang diasamkan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam (Harborn,1987).

2.10.2. Glikosida

Glikosida merupakan suatu senyawa, bila dihidrolisis akan terurai menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (glikon atau genin). Glikosida yang gulanya berupa glukosa disebut glukosida. Gula pada glikosida umumnya berupa glukosa, fruktosa, laktosa galaktosa dan manosa, tetapi juga dapat berupa gula yang khusus seperti sarmantosa (sarmantosimarina), oleandrosa (oleandrin), simarosa (simarina), dan rutinosa (rutin). Sedangkan aglukosa (genin) mempunyai gugus OH dalam bentuk alkoholis atau fenolis (Harborn,1987).

2.10.3. Flavonoid

Flavonoid menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan *Primula*. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spectrum UV dan spektrum tampak. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida. merupakan senyawa pereduksi yang baik, senyawa ini menghambat banyak reaksi oksidasi baik secara enzimatis maupun non enzimatis (Harborn,1987).

2.10.4. Terpen

Terpen tersusun dari molekul isopren $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5 ini. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskiterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap dan yang tidak menguap, triterpen, dan sterol.

Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan eter dan kloroform. Steroid merupakan senyawa triterpen yang terdapat dalam bentuk glikosida. Senyawa ini biasanya diidentifikasi dengan reaksi Liebermann-Bouchard

(anhidrat asetat- H_2SO_4) yang memberikan warna hijau kehitaman sampai biru (Harborn,1987).

2.10.5 Tanin

Tanin merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan dan tersebut luas, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air.

Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin kondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosntesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer. Tanin dapat diidentifikasi dengan menggunakan cara pengendapan menggunakan larutan gelatin 10%, campuran natrium klorida-gelatin, besi (III) klorida 3%, dan timbal (II) asetat 25% (Harborn,1987).

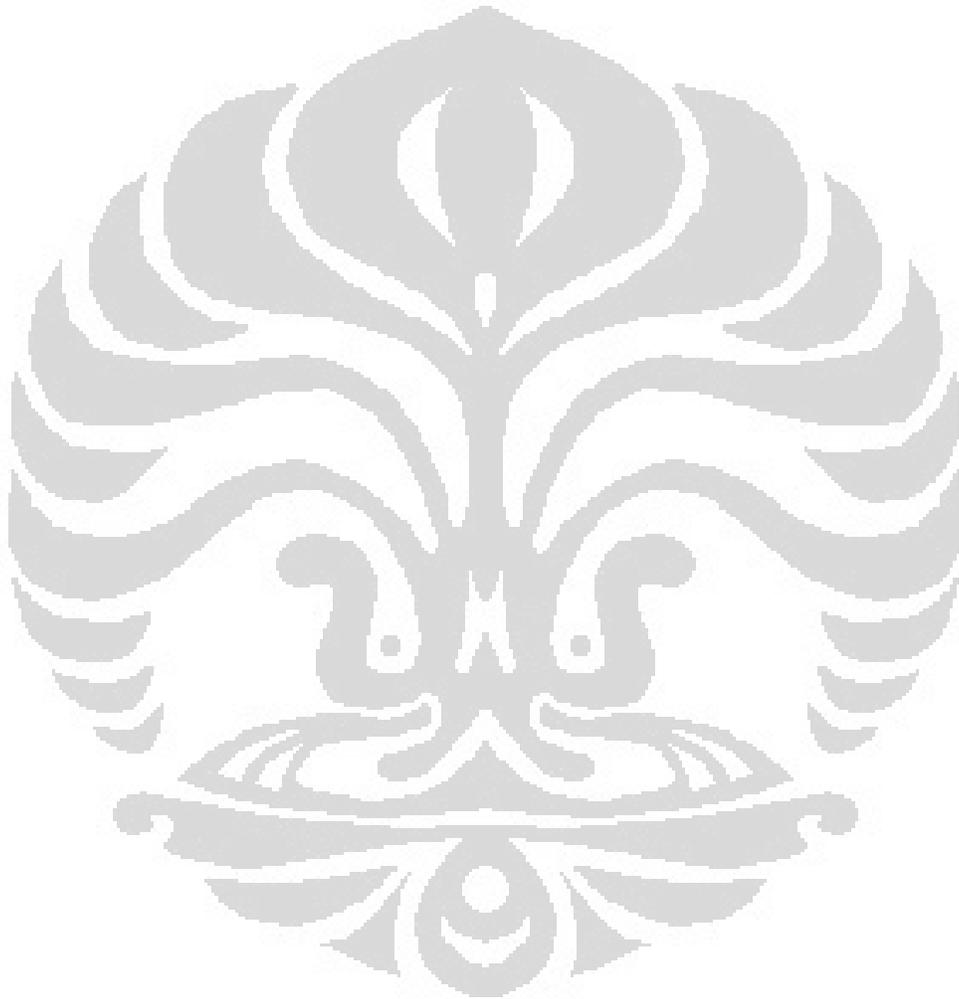
2.10.6. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus. Identifikasi dapat dilakukan dengan mengocok ekstrak dengan air hangat di dalam tabung reaksi dan akan timbul busa yang dapat bertahan lama, setelah penambahan HCl 2 N busa tidak hilang (Harborn,1987).

2.10.7 Kuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon – karbon. Untuk tujuan identifikasi, kuinon dapat dipilah menjadi empat kelompok : benzokuinon, naftokuinon, antrakuinon, dan kuinon isoprenoid. Tiga kelompok pertama biasanya terhidroklisasi dan bersifat senyawa fenol serta mungkin terdapat *in vivo* dalam bentuk gabungan dengan gula sebagai glikosida atau dalam bentuk kuinol. Untuk memastikan adanya adanya suatu pigmen termasuk kuinon atau bukan, reaksi warna sederhana masih tetap berguna. Reaksi yang khas ialah reduksi bolak balik

yang mengubah kuinon menjadi senyawa tanpa warna, kemudian warna kembali lagi bila terjadi oksidasi oleh udara (Harbone, 1987).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. WAKTU DAN TEMPAT

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Penelitian Fitokimia Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (FMIPA UI) Depok. Penelitian dimulai pada bulan Agustus hingga Desember 2011.

3.2. ALAT

Blender, botol cokelat, alat shaker, kondensor, penangas air, tabung reaksi, termometer, tabung reaksi, erlenmeyer, beaker glass, pipet volume, pipet mikro, pipet tetes, cawan penguap, labu takar, gelas ukur, kuvet kuarsa, plat tetes, batang pengaduk, spatel, sendok tanduk, gelas arloji, penguap vakum putar (rotavapor), rak tabung reaksi, timbangan analitik, pHmeter, lempeng silika gel F 254 (merck), dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu).

3.3. BAHAN

3.3.1. Simplisia

Penelitian ini menggunakan Jamur *Pleurotus ostreatus* yang berasal dari Perkebuan budidaya jamur di daerah Lembang Bandung dan dideterminasi di LIPI Cibinong.

3.3.2. Bahan Kimia

Pelarut metanol, etil asetat dan n-heksan teknis yang telah didestilasi, HCl 1 N, Bouchardat LP, Mayer LP, Dragendorf LP, air suling (aquadest), HCl 2 N, HCl 10%, natrium sulfat anhidrat, metanol, asam sulfat P, Molisch LP, asam asetat anhidrat, etanol 95%, serbuk seng, serbuk magnesium, serbuk asam borat, serbuk asam oksalat, natrium karbonat, larutan Pb (II) asetat, larutan NaCl 10%, larutan gelatin (10%), FeCl₃ 1%, asam sulfat 2 N, etil asetat p.a (merck), n-heksan p.a (merck), metanol p.a (merck), 1,1-Difenil-2-pikrihidrazil, kuersetin, lempeng silika GF 254, dan serbuk silika gel 60 H.

3.4. CARA KERJA

Tahapan kerja yang akan dilakukan dalam penelitian ini diawali dengan penyiapan bahan. Selanjutnya akan dilakukan proses ekstraksi, identifikasi golongan senyawa kimia, dan uji antioksidan. Masing-masing tahapan tersebut akan dijelaskan sebagai berikut:

- 3.4.1 Penyiapan Simplisia Uji
- 3.4.2 Pembuatan Ekstrak
- 3.4.3 Penapisan Fitokimia
- 3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak
- 3.4.5 Pemurnian Fraksi Etil asetat
- 3.4.6 Uji aktivitas antioksidan fraksi dan senyawa murni
- 3.4.7 Penapisan Fitokimia terhadap fraksi yang aktif

3.4.1. Penyiapan Simplisia Uji

Jamur *Pleurotus ostreatus* yang akan digunakan dikumpulkan dan selanjutnya dibersihkan dari pengotor lalu dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Jamur tersebut dikeringkan di udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung kemudian dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 40⁰ C dan dihitung presentase perbandingan jamur kering terhadap jamur segar. Simplisia yang telah kering diserbuk dengan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 20 mesh.

3.4.2. Pembuatan Ekstrak

Serbuk kering simplisia sebanyak 1,84 kg dimasukkan ke dalam bejana kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Simplisia diekstraksi dengan pelarut metanol menggunakan *shaker*. Pada maserasi digunakan 7 L pelarut metanol dengan pengocokan selama 6 jam dan kemudian didiamkan selama 18 jam. Proses ekstraksi diulang sebanyak 5 kali. Residu dipisahkan dari filtrat dengan cara disaring, selanjutnya filtrat yang didapat dipisahkan. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰ C. Maka akan diperoleh ekstrak metanol.

Penguapan kemudian dilanjutkan dengan menggunakan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk mengetahui rendemannya. Ekstrak kental metanol dilakukan fraksinasi partisi cair - cair dengan pelarut yang meningkat kepolarannya. Proses ekstraksi partisi cair - cair dengan cara pengocokan pada corong pisah menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Proses fraksinasi ini dilakukan sampai perubahan warna dan pemisahan terlihat jelas.

3.4.3. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari ekstrak metanol

3.4.3.1. Identifikasi Alkaloid (Materia Medika, 1995)

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dengan 1ml asam HCL 2 N dan kemudian campuran air suling (1:9), kemudian panaskan selama 2 menit. Selanjutnya disaring dan 1 mL filtrat digunakan sebagai larutan percobaan yang selanjutnya dilakukan sebagai berikut :

- a. Ditambahkan 2 tetes Mayer LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan coklat hitam.
- b. Ditambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan putih.
- c. Ditambahkan 2 tetes Dragendorf LP. Hasil positif terbentuk endapan jingga coklat.

3.4.3.2. Identifikasi Glikosida (Materia Medika, 1995)

Sebanyak 2 mg ekstrak kental ditambahkan 25 mL air dan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, didiamkan selama 5 menit, disaring. Sari filtrat 3 kali, tiap kali dengan 20 mL campuran 3 bagian volume kloroform dan 2 bagian volume isopropanol. Kemudian dikumpulkan filtrat dan diuapkan, ditambahkan natrium sulfat anhidrat, disaring dan diuapkan, Ditambahkan 2 mL metanol P dan larutan ini digunakan sebagai larutan percobaan.

- a. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrat P dan 1 tetes asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya warna biru atau hijau (Reaksi Liebermann Burchard).
- b. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dengan 2 mL air dan 5 tetes Molisch LP. Kemudian ditambahkan dengan hati-hati

2 mL asam sulfat P. Hasil positif terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan (Reaksi Molisch).

3.4.3.3. Identifikasi Saponin (Materia Medika, 1995)

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL air suling panas, didinginkan, dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 19 cm, pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N, buih tidak hilang.

3.4.3.4. Identifikasi Flavonoid (Materia Medika, 1995)

a. Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 1-2 mL etanol (95%), kemudian ditambahkan 0,5 gram serbuk seng P dan 2 mL asam klorida 2 N dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat P, jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol).

b. Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 1 mL etanol (95%) P. Kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.

c. Sebanyak 2 mg ekstrak kental ditambahkan aseton P, ditambahkan sedikit demi sedikit serbuk halus asam borat P dan serbuk halus asam oksalat P, dipanaskan hati-hati di atas penangas air dan hindari pemanasan yang berlebihan. Dicampur sisa yang diperoleh dengan 10 ml eter. diamati dengan sinar ultraviolet 366 nm; larutan berfluorosensi kuning intensif, menunjukkan adanya flavonoid.

3.4.3.5. Identifikasi Tanin (Farnsworth, 1966)

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 10 mL air panas dididihkan selama 5 menit. disaring filtrat kemudian masing-masing 1 ml filtrat dikerjakan sebagai berikut :

a. Ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Reaksi positif jika terbentuk warna hijau violet.

b. Ditambahkan beberapa tetes larutan gelatin dan diperhatikan adanya endapan.

c. Ditambahkan Na asetat dan FeCl_3 1% sehingga menimbulkan warna biru tinta atau hitam yang menunjukkan tanin galat.

3.4.3.6. Identifikasi Antrakuinon (Materia Medika, 1995)

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dengan 5 mL asam sulfat 2 N, dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Ditambahkan 10 mL benzene P, dikocok, didiamkan. Dipisahkan lapisan benzene, disaring, filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Dikocok lapisan benzene dengan 1 mL sampai 2 mL natrium hidroksida 2 N, didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzen tidak berwarna.

3.4.3.7. Identifikasi Sterol-Terpen (Farnsworth, 1966)

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 5 ml eter kemudian diuapkan di dalam cawan penguap. Ke dalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat, kemudian 1 tetes asam sulfat pekat akan terbentuk warna merah-hijau atau violet-biru.

3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Pada masing-masing ekstrak dari Jamur *Pleurotus ostreatus* (ekstrak metanol, etil asetat, *n*-Heksan diuji aktivitas antioksidan dengan metode Blois. Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

3.4.4.1. Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah 10 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a didapatkan konsentrasi DPPH 100 $\mu\text{g/mL}$.

3.4.4.2. Pembuatan larutan blanko

larutan blanko yang digunakan adalah 1 mL metanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL DPPH, lalu ditambahkan 2 mL metanol dikocok hingga homogen. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.

3.4.4.3 Persiapan larutan uji dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat, metanol

a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$)

Sejumlah 12,5 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a hingga homogen.

- b. Pembuatan larutan induk ekstrak (konsentrasi 200, 100, 50, 25, dan 10 $\mu\text{g/mL}$)
Dipipet masing-masing 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; dan 2,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

3.4.4.4. Pembuatan Larutan kuersetin dan BHT (*butylhydroxytoluene*) sebagai pembanding

- a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$)
Masing-masing pembanding ditimbang 5 mg zat dan dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a hingga homogen.
- b. Pembuatan larutan seri (konsentrasi 1, 2, 4, 10 dan 16 $\mu\text{g/mL}$)
Dipipet masing-masing 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 0,8 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

3.4.4.5. Penentuan Panjang gelombang maksimum pengukuran

Larutan DPPH yang telah dibuat dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ ditentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 400 nm hingga 700 nm, ditentukan panjang gelombang optimumnya.

3.4.4.6. Pengujian Aktivitas Antioksidan terhadap ekstrak dan Kuersetin

Dari masing-masing larutan uji dipipet 1,0 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1,0 mL DPPH 100 $\mu\text{g/mL}$ lalu ditambahkan 2,0 mL metanol dikocok hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang optimumnya.

3.4.4.7. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Dari masing-masing larutan uji dipipet 1,0 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1,0 mL DPPH 100 $\mu\text{g/mL}$ lalu ditambahkan 2,0 mL metanol dikocok hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 517,5 nm.

3.4.4.6. Pengukuran serapan sampel

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban Blangko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorban Blangko}} \times 100 \%$$

Setelah didapatkan presentasi inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) dan y adalah presentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$. Ekstrak yang menunjukkan nilai IC_{50} yang paling kecil kemudian dilakukan kromatografi kolom.

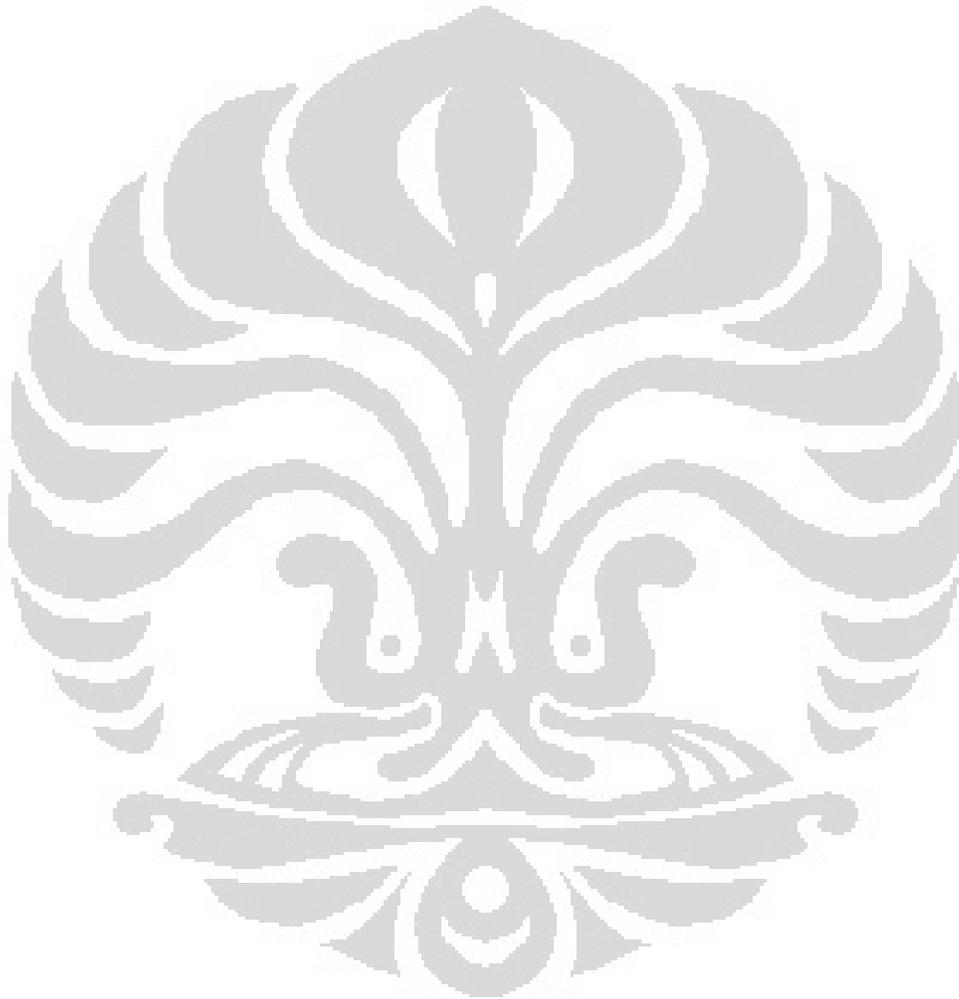
3.4.5. Pemurnian Fraksi Etil Asetat

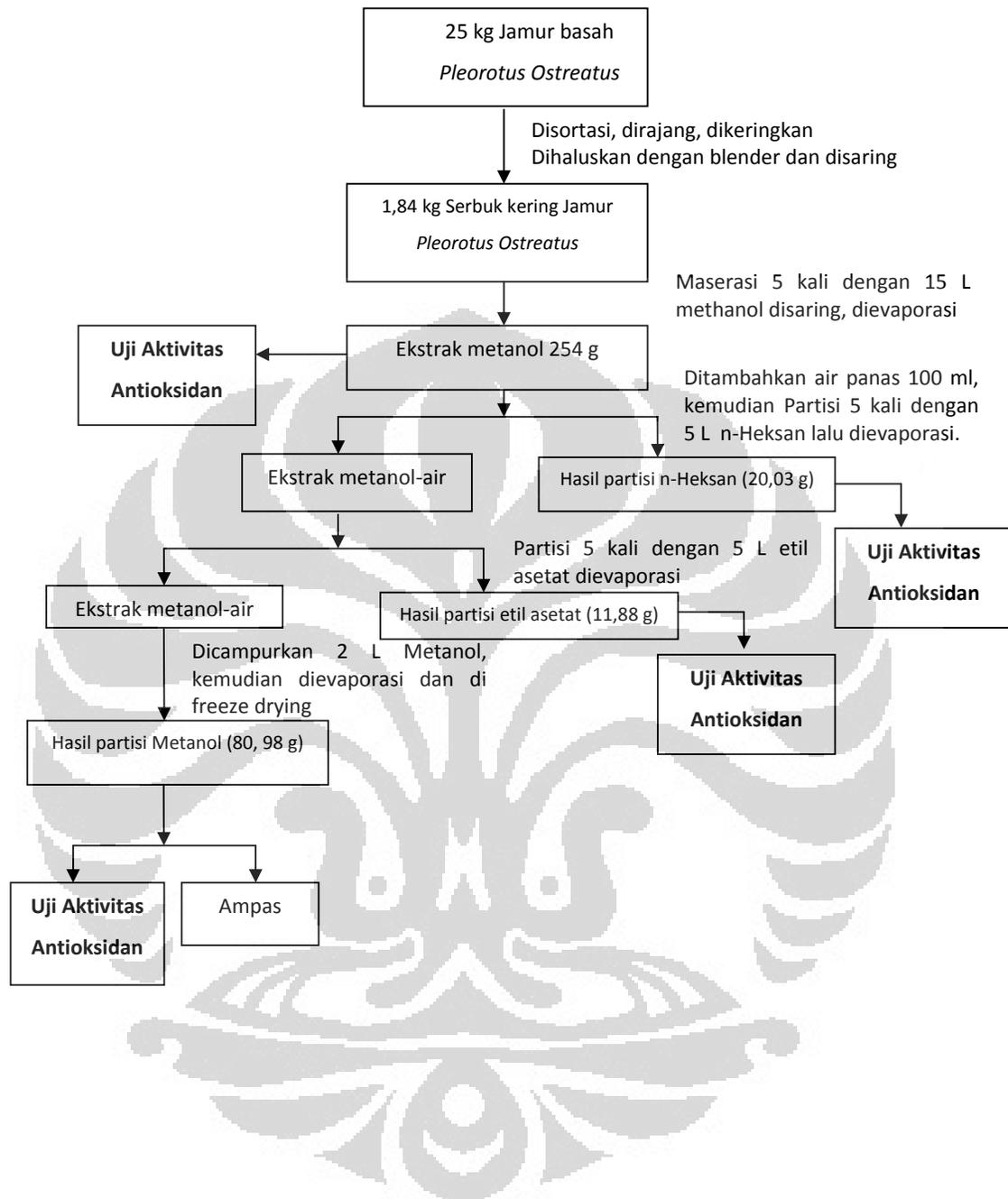
Isolasi dan pemurnian senyawa dilakukan terhadap ekstrak etil asetat karena memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil.

3.4.5.1. Pemurnian Senyawa dari Ekstrak Etil Asetat

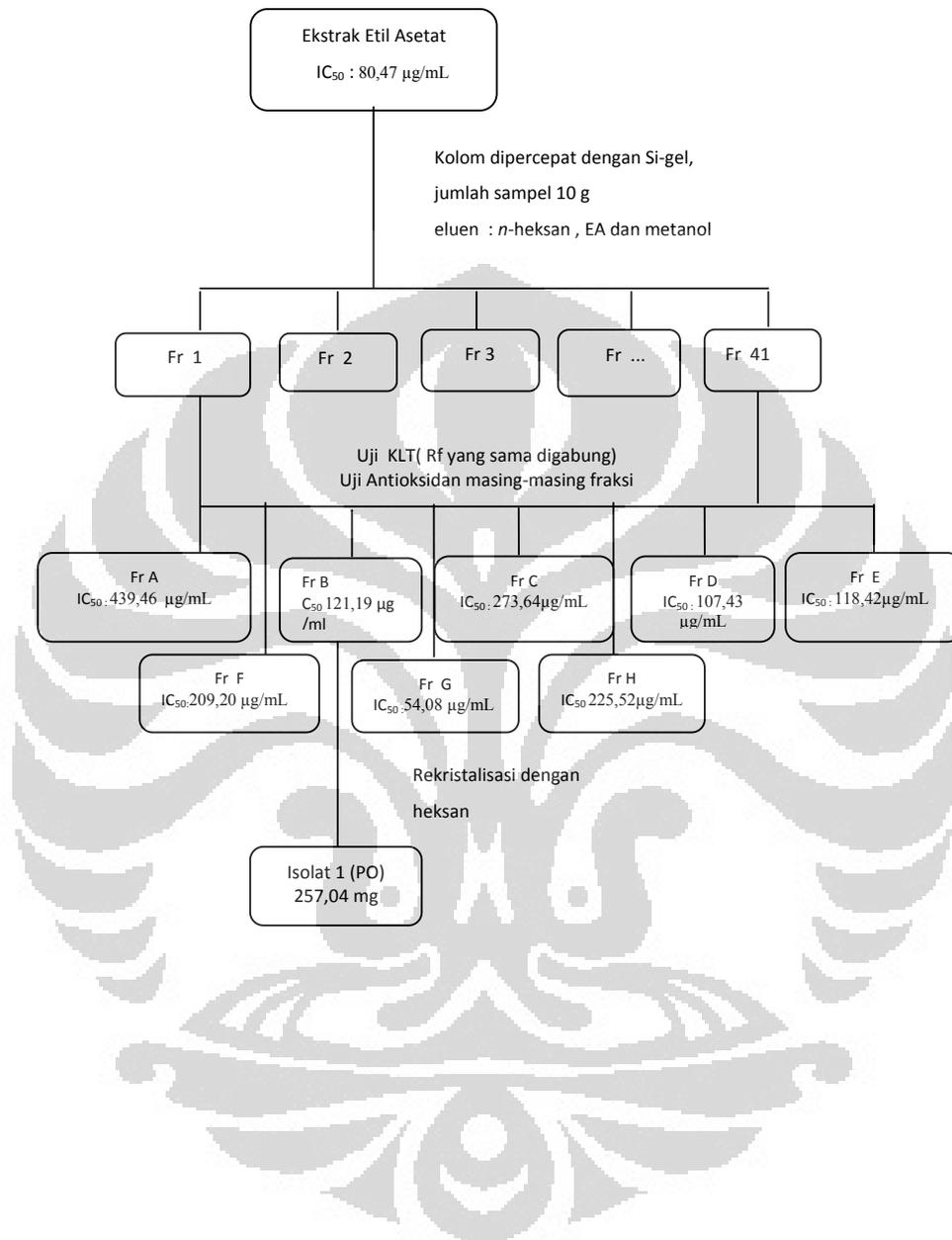
Sebanyak 10 g ekstrak etil asetat *Pleurotus Ostreatus* difraksinasi dengan kromatografi kolom dipercepat menggunakan fase diam 150 g silika gel 60 (230-400 mesh) dan sebagai fase gerak digunakan campuran pelarut mulai dari n -heksan dengan etil asetat dan etil asetat dengan metanol. Pelarut n -heksan : etil asetat yang digunakan adalah perbandingan; 10:0 ; 9,5:0,5 ; 9:1 ; 8,5:1,5 ; 8:2 ; 7,5:2,5 ; 7:3 ; 6,5:3,5 ; 6:4 ; 5,5:4,5 ; 5:5 ; 4,5:5,5 ; 4:6 ; 3,5:6,5 ; 3:7 ; 2,5:7,5 ; 2:8 ; 1,5:8,5 ; 1:9 ; 0,5:9,5 ; 0:10 dan etil asetat : metanol dengan perbandingan sama seperti diatas. Untuk setiap perbandingan volume pelarut yang digunakan 200 ml. Setiap eluat ditampung dalam botol 100 mL dan diuapkan dengan penguap putar. Hasil dari kromatografi kolom cepat tersebut diperoleh 41 fraksi, yang selanjutnya digabung berdasarkan kesamaan nilai R_f pada kromatogram KLT sehingga diperoleh 8 fraksi gabungan (Fr A-H). Pada fraksi gabungan (Fr B) terdapat kristal jarum yang masih bercampur dengan minyak kuning selanjutnya kristal tersebut dimurnikan dengan

pelarut n-heksan, menghasilkan kristal jarum berwarna putih. Kristal tersebut dimurnikan lebih lanjut dengan cara rekristalisasi berulang menggunakan pelarut etil asetat hingga diperoleh 257,04 mg kristal putih (PO).





Gambar 3.1. Bagan Alur Ekstraksi Jamur *Pleurotus Ostreatus*



Gambar 3.2. Bagan Alur Pemurnian Ekstrak Etil asetat dari Jamur *Pleurotus Ostreatus*

3.4.5.2 Pemeriksaan Senyawa Murni

Terhadap isolat dilakukan identifikasi dan dengan cara fisika dan KLT :

a. Pemeriksaan fisika

Terhadap isolat selain dikarakterisasi wujud/bentuk, warna dan bau juga ditentukan titik lelehnya menggunakan alat *stuart scientific*. Caranya yaitu dengan meletakkan sebutir kristal atau serbuk pada wadah yang ada pada alat tersebut kemudian suhu dinaikkan secara perlahan-lahan, lazimnya tiap menit temperatur dinaikkan 1°C. Titik leleh ditandai dengan mulai meleburnya kristal sampai seluruhnya berubah wujud menjadi cair. Senyawa yang dikatakan murni ditandai dengan jarak leleh yang tajam $\pm 2^\circ$.

b. Pemeriksaan Secara Kromatografi Lapis Tipis

Cairan yang digunakan untuk elusi dijenuhkan dalam bejana ± 15 menit. Pada lempeng KLT ditotolkan sampel uji menggunakan pipa kapiler kemudian dimasukkan kedalam bejana dengan posisi cairan pengelusi dibawah bercak penotolan. Untuk senyawa PO, eluen yang digunakan adalah *n*-heksan:etil asetat (9:1). Selanjutnya eluen dibiarkan merambat sampai mencapai batas plat yang telah ditandai. Noda diidentifikasi pada sinar UV dengan λ_{\max} 254 dan 366 .

3.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi dan Senyawa Murni

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi dan isolat dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil) sama seperti yang dilakukan terhadap ekstrak.

3.4.7 Penapisan Fitokimia terhadap fraksi Teraktif

Penapisan Fitokimia antioksidan fraksi teraktif dilakukan dengan metode yang sama seperti yang dilakukan terhadap fraksi ekstrak.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan Bahan

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah Jamur *Pleorotus Ostreatus* sebanyak 25 kg yang diperoleh dari perkebunan Lembang Bandung dan dideterminasi oleh LIPI Cibinong (Lampiran 1). Setelah melalui proses sortasi, pengeringan, penghalusan dan penyaringan, diperoleh 1,84 kg serbuk kering Jamur *Pleorotus Ostreatus*.

Pengeringan dilakukan dengan dianginkan di udara terbuka. Proses pengeringan akan mengurangi kadar air, sehingga suhu dan waktu pengeringan dapat mempengaruhi. Suhu pengeringan tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. Suhu yang digunakan dalam proses pengeringan berkisar 40⁰C – 60⁰C. Untuk uji aktivitas antioksidan tidak boleh mendapat suhu tinggi dalam pengeringan, karena akan mempengaruhi hasil uji.

Simplisia yang telah kering di sortasi tujuannya untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran lain yang masih tertinggal pada simplisia kering. Simplisia yang telah disortir, kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk kemudian diayak dengan ayakan 20 mesh hingga didapat ukuran serbuk yang seragam. Untuk mencegah kerusakan atau mutu simplisia, serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

4.2 Ekstraksi

Sejumlah 1,84 kg serbuk kering jamur *Pleorotus ostreatus* dimaserasi dengan 15 L pelarut metanol selama 5 hari, maserasi dilakukan 5 kali. Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak.

Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 45°C, sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Terhadap ampas metanol dilakukan pemisahan partisi menggunakan corong pisah berturut turut dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan metanol kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etil *n*-heksan hasil partisi, etil asetat hasil partisi, dan metanol hasil partisi berturut-turut adalah 254,37 g ekstrak metanol ; 20,03 g ekstrak *n*-heksan hasil partisi ; 11,87 g ekstrak etil asetat hasil partisi dan 80,99 g ekstrak metanol hasil partisi (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Data rendemen ekstrak daun jamur *Pleorotus ostreatus*

No.	Nama Simplisia	Bobot Ekstrak (mg)	Rendemen Ekstrak (%)
1.	Ekstrak metanol	254,37	13,80
2.	Ekstrak <i>n</i> -heksan hasil partisi	20,03	10,15
3	Ekstrak etil asetat hasil partisi	11,87	5,94
4.	Ekstrak metanol hasil partisi	80,99	40,49

4.3 Uji Antioksidan Ekstrak

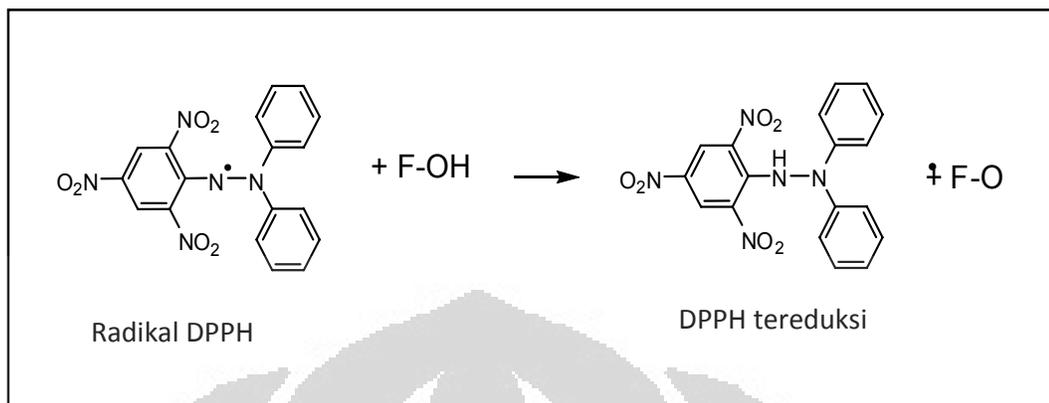
Dalam pengujian aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak digunakan spektrofotometer UV-Vis. penentuan panjang gelombang maksimum DPPH menunjukkan serapan maksimum larutan DPPH terletak pada panjang gelombang 517,5 nm (Lampiran 6). Selanjutnya, semua pengukuran dengan metode peredaman radikal DPPH dilakukan pada panjang gelombang tersebut.

Hasil uji aktivitas masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat hasil partisi dan metanol hasil partisi memiliki aktivitas antioksidan yang baik dengan IC₅₀ masing-masing 73,24 dan 90,52 µg/mL sedangkan *n*-heksan hasil partisi tidak aktif dengan IC₅₀ 273 µg/mL sementara kuersetin yang digunakan digunakan sebagai pembanding memiliki IC₅₀ 2,37 µg/mL (Tabel 4.3.1).

Tabel 4.3.1 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *Pleorotus ostreatus*

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans		% Inhibisi	Persamaan linier	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
		Blanko	Sampel uji			
Kuersetin	1	0,691	0,4808	21,06	$y = 12,513x + 20,293$ $r = 0,9675$	2,37
	2		0,4633	23,93		
	4		0,3712	39,057		
	10		0,2981	51,05		
	16		0,1853	69,57		
Ekst. Metanol	12,5	0,482	0,3091	1,84	$y = 0,4207x + 0,1786$ $r = 0,9234$	118,24
	50		0,3003	4,63		
	100		0,2893	8,13		
	150		0,25	20,6		
	250		0,2366	24,86		
Ekst. <i>n</i> -heksan hasil partisi	25	0,2962	0,2863	3,34	$y = 0,1709x + 3,2354$ $r = 0,9528$	273,81
	75		0,271	8,5		
	175		0,2683	9,4		
	250		0,2554	13,77		
	375		0,2476	19,62		
Ekst. Etil Asetat hasil partisi	25	0,5487	0,3491	27,57	$y = 0,3367x + 25,338$ $r = 0,9985$	73,24
	50		0,3402	29,41		
	100		0,316	33,82		
	125		0,3102	35,64		
	150		0,2982	38,13		
Ekst. Metanol hasil partisi	1	0,5487	0,3453	36,04	$y = 0,1557x + 35,906$ $r = 0,9687$	90,52
	12,5		0,3431	38,19		
	50		0,3424	39,11		
	75		0,3331	39,73		
	100		0,331	40,55		

Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan yaitu berupa donasi proton kepada radikal. DPPH dalam bentuk non-radikal akan kehilangan warna ungunya yang mana pemudaran warna ini dapat ditunjukkan dengan penurunan serapan dari DPPH pada panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran penurunan serapan DPPH pada larutan uji dihitung terhadap serapan kontrol yakni larutan DPPH dan pelarut tanpa sampel.



Gambar 4.3.1 Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan berupa donasi proton

Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran penangkapan radikal bebas dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan (Pokorni, 2001).

Proses penangkapan radikal ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas (Pine, Stanley, 1988), sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan adalah DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Pokorni, 2001).

Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004) selanjutnya radikal bebas DPPH akan membentuk senyawa bukan radikal yaitu DPPH yang stabil (Windono, 2001)

4.4 Penapisan Fitokimia

Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak metanol, *n*-heksan hasil partisi, etil asetat hasil partisi dan metanol hasil partisi dari Jamur *Pleorotus ostreatus* pada ekstrak metanol positif alkaloid, dan saponin. Untuk Ekstrak *n*-heksan hasil partisi positif pada terpenoid. Ekstrak Etil asetat hasil partisi positif pada terpenoid dan saponin. Kemudian ekstrak metanol hasil partisi positif alkaloid dan saponin. Data hasil penapisan dapat dilihat pada Tabel 4.4.1.

Tabel 4.4.1. Hasil uji penapisan fitokimia dari ekstrak Metanol, *n*-heksan hasil partisi, etil asetat hasil partisi dan metanol hasil partisi Jamur *Pleorotus ostreatus*

No	Golongan Kimia	Pengamatan Sampel			
		Ekstrak Metanol	Ekstrak <i>n</i> -heksan hasil partisi	Ekstrak Etil asetat hasil partisi	Ekstrak Metanol hasil partisi
1	Alkaloid	+	-	-	+
2	Flavonoid	-	-	-	-
3	Steroid/Terpenoid	+	+	+	-
4	Tanin	-	-	-	-
5	Kuinon	-	-	-	-
6	Glikosida	-	-	-	-
7	Saponin	+	-	+	+

4.5 Pemurnian Fraksi Etil Asetat hasil partisi

Pemurnian dilakukan terhadap ekstrak yang berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH memberi aktivitas yang paling baik, yaitu ekstrak etil asetat hasil partisi. Pemurnian terhadap ekstrak etil asetat hasil partisi dari Jamur *Pleorotus ostreatus* diperoleh 257,04 mg senyawa murni PO. Senyawa PO berupa kristal jarum berwarna putih. Mempunyai titik leleh 154-155⁰C. Hasil Kromatografi Lapis tipis dengan eluen *n*-heksan:etil asetat (9:1)

memperlihatkan senyawa ini memiliki Rf 0,46. Dilakukan identifikasi dengan penyemprotan pada lempeng KLT menghasilkan bercak ungu pada uji steroid.

4.6 Antioksidan Fraksi dan Senyawa Murni

Efek antioksidan dari senyawa murni pada fraksi B yang diperoleh dalam penelitian ini kembali diuji dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Senyawa PO tidak memperlihatkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat, hal ini ditandai dengan nilai IC_{50} senyawa PO yaitu 121,19 $\mu\text{g/mL}$.

Tabel 4.7.1. Data uji antioksidan fraksi dan senyawa murni

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans		% Inhibisi	Persamaan linier	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
		Blanko	Sampel uji			
Kuersetin	1	0,3921	0,326	16,85	$y = 22,72x + 10,791$ $r = 0,995$	1,72
	2		0,3131	20,14		
	4		0,2534	35,37		
	5		0,2372	39,5		
	10		0,1084	67,06		
PO 257,04 mg	12,5	0,3907	0,3018	37,38	$y = 0,1256x + 22,513$ $r = 0,9973$	121,19
	75		0,2928	39,25		
	125		0,2876	40,33		
	175		0,2808	41,74		
	250		0,2725	43,46		
Fr A 11,46 mg	5	0,748	0,722	3,4	$y = 0,1056x + 3,593$ $r = 0,994$	439,46
	12,5		0,718	4		
	25		0,714	4,5		
	50		0,71	5		
	125		0,697	6,8		
	250		0,671	10,2		
Fr B 57,84 mg	12,5	0,3907	0,3134	19,78	$y = 0,1636x + 19,837$ $r = 0,9416$	184,37
	75		0,2992	23,41		
	125		0,295	24,49		
	175		0,2798	28,38		
	250		0,2766	29,2		
Fr C 315,67 mg	25	0,2965	0,2863	3,34	$y = 0,1709x + 3,2354$ $r = 0,9528$	273,64
	75		0,271	8,5		
	175		0,2683	9,4		
	250		0,2554	13,77		
	375		0,2476	19,62		
	12,5	0,3907	0,2538	35,04	$y = 0,14x +$	107,44

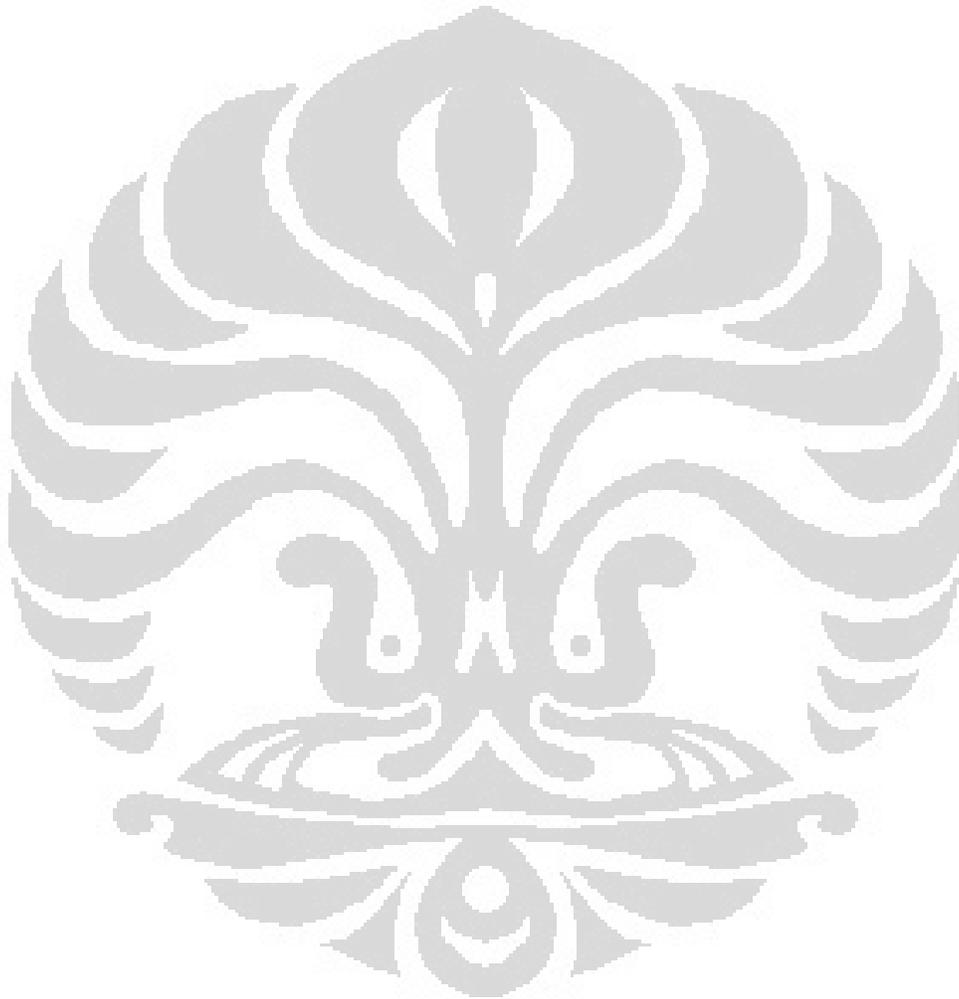
Tabel 4.7.1. (Lanjutan)

Fr D 124,7 mg	25		0,2506	35,85	34,959 $r = 0,9612$	
	50		0,2451	37,27		
	75		0,2438	37,59		
	100		0,241	38,31		
	125		0,2373	39,26		
Fr E 109,83 mg	12,5	0,482	0,3091	1,84	$y = 0,4207x$ $+ 0,1786$ $r = 0,9234$	118,42
	50		0,3003	4,63		
	100		0,2893	8,13		
	150		0,25	20,6		
	250		0,2366	24,86		
Fr F 178,53 mg	25	0,759	0,753	5,28	$y = 0,2253x$ $+ 2,866$ $r = 0,8277$	209,20
	50		0,751	5,28		
	75		0,731	5,53		
	100		0,725	8,8		
	125		0,711	10,56		
Fr G 236,87 mg	12,5	0,3907	0,246	37,04	$y = 0,248x$ $+ 36,588$ $r = 0,9881$	54,08
	25		0,2397	38,65		
	50		0,2358	39,65		
	75		0,2305	40,98		
	100		0,2234	42,82		
	125		0,2172	44,41		
Fr H 219,56 mg	25	0,777	0,743	4,37	$y = 0,2061x$ $+ 3,52$ $r = 0,9716$	225,52
	50		0,726	6,56		
	75		0,718	7,59		
	100		0,71	8,62		
	125		0,701	9,78		

Nilai IC_{50} dari dari senyawa murni PO memiliki aktivitas antioksidan kurang kuat. Untuk senyawa yang memiliki Nilai IC_{50} lebih kecil (aktivitas antioksidan yang lebih besar) maka senyawa tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Senyawa PO yang berasal dari ekstrak etil asetat itu sendiri kemungkinan karena hasil dari fraksinasi sedikit lebih murni. Fraksi tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang kurang kuat. Untuk fraksi teraktif ditunjukkan pada Fr G yang memiliki nilai IC_{50} terkecil. Hal ini kemungkinan terjadi karena pada Fr tersebut terdapat senyawa yang mampu mendonorkan proton sehingga memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

3.4.8 Penapisan Fitokimia terhadap fraksi Teraktif

Penapisan Fitokimia terhadap fraksi yang teraktif dilakukan dengan pengujian terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, antraknon, saponin, terpenoid, dan glikosida sama dengan perlakuan terhadap penapisan ekstrak. Dari hasil uji didapatkan hasil yang positif pada pengujian terpenoid.



BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data penelitian yang telah diperoleh, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- Uji aktivitas antioksidan jamur *Pleorotus ostreatus* diantara keempat ekstraknyanya yakni ekstrak metanol, *n*-heksan hasil partisi, etil asetat hasil partisi, dan metanol hasil partisi menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan IC_{50} berturut turut 118,24; 273; 73,24; dan 90,52 $\mu\text{g/mL}$.
- Dari Pemurnian 10 g ekstrak etil asetat hasil partisi dengan metode pemisahan kromatografi kolom dipercepat diperoleh delapan fraksi yang pada fraksi G menghasilkan IC_{50} 54,08 $\mu\text{g/mL}$ memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Sedangkan pada fraksi A, B, C, D, E, F, dan H menghasilkan IC_{50} 439,46; 121,19; 273,637; 107,43; 118,42; 209,20; dan 225,52 $\mu\text{g/mL}$. Uji penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap fraksi teraktif pada fraksi G memberikan hasil yang positif terhadap terpenoid. Pada fraksi B di dapatkan 257,04 mg senyawa murni (PO).
- Dari hasil pemeriksaan senyawa kimia diduga senyawa PO adalah yaitu golongan Steroid.

5.2 Saran

- Penelitian ini dapat dilanjutkan untuk memastikan struktur kimia yang lebih tepat dengan data yang diperoleh dari UV, IR, NMR 2D yaitu COSY, DEPT, HMBC, HMQC dan juga dengan spektrum massa.
- Penelitian ini masih perlu dilanjutkan karena beberapa fraksi yang potensial masih berpeluang untuk ditemukannya senyawa-senyawa lain.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai macam uji bioaktivitas terhadap jamur ini.

DAFTAR ACUAN

- Alexopoulos, C. J., and C. J., Mims. (1979). *Introductory Mycology*. 3rd edition. New York : John Willey and Sons
- Akindahunsi AA, Oyetayo FL .(2006) .Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium* (fries) Singer. *Food Sci. Technol*,39,548-553.
- Barros L, Falcao S, Baptista P, Freire C, Vilas-Boas M, Ferreira ICFR (2008) Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem*,111, 61–6.
- Blois, MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature* 181: 1199-1200.
- Chirinang, ponariya. (2009, 21 April). Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Phytochemistry, Letters*. 166-182. 2 oktober, 2009. <http://www.sciencedirect.com>.
- Cohen, R., Persky, L and Y. Hadar.(2004). Biotechnological applications and potential wood degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Appl. Microb. Biotechnol*, 58.
- Creswell, C.J., O.A, Runquist., and M.M, Campbell. (1982). *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Edisi ke 3. Diterjemahkan oleh: K. Padmawinata dan I, Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Dachriyanus., (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Padang: Andalas University Press.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Elmastas M., Isildak O., Turkekul I., Temur N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *J Food Compos Anal* ,20, 337–45.
- Fairuzah, Z., Rahayu, S.T.S., Suryaman, S., dan Zaini, A., (2008). Laporan Pengujian Efektivitas Biotani Terhadap Perkembangan Jamur Tiram Putih (JAP). Sungei Putih : Pusat Penelitian Karet.
- Farnsworth, N.R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science*,55, 3, 226-276.

- Fu, Hui-Yin., Song,S.F., dan Shieh ,Den-En. (2001) *Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Edible Mushrooms*. Taiwan : Departent of Food Science Rutgers University.
- Gaedcke, F., Steinhoff, B. dan Blasius, H. (2003). *Herbal Medicinal Product*. Stuttgart: CRC Press.
- Goad, L.J. and Akhisa, T. (1997), *Analysis os sterols*. London and New York: Blackie Academic & Professional.
- Gritter, R, J., J. M. Bobbits, and A. E. Schwarting. (1987). *Introduction to Chromatography (Pengantar Kromatografi)*, Edisi ke-2,diterjemahkan oleh K. Padmawinata, Bandung : Penerbit ITB.
- Harmita. (2006). *Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Harmita, Hayun, Hariyanto, Herman S., Nelly D.L., Sabarijah W., Umar M.(2006). *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan*. Terjemahan Padmawinata. K. Bandung: Penerbit ITB.
- Iwalokun, B. A., Usen, U. A., Otunba, A. A., and Olukoya, (Mei, 31 2007).D. K. *Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of Pleurotus ostreatus*. Nigeria : Departmernt of Biochemistry, Lagos state University.
- Jayakumar T, Ramesh E, Geraldine P.(2006) Antioxidant activity of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on CCl4-induced liver injury in rats. *Food Chem Toxicol* 44, 1989–96.
- Jose N, Janardhanan KK. (2000) Antioxidant and antitumor activity of *Pleurotus florida*. *Curr Sci*, 79, 941–3.
- L, Pathmashini . , V, Arulnandhy dan R.S,Wilson Wijeratnam. (2008). *Cultivation of Oyster Mushrooms (Pleurotus ostreatus) On Sawdust*. Srilanka : Department of Agricultural Engineering, Faculty of Agriculture, Eastern University.
- Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V and L. Pizzoferrato.(1999). Nutrients in edible mushroom: An inter-species comparative study. *Food Chem.* 65, 477-482.
- Materia Medika Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia Volume VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Mattila P, Salo-Väänänen P, Kõrkko K, Aro H, Jalava T. (2002) Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *J Agr Food Chem*, 50, 6419–22.
- Mau, J. L., Lin, H.C and S.F Song, (2002). Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res. Internat*, 35, 519–526.
- Molyneux, P.(2004). Use of DPPH to Estimate antioxidant Activity, *J.Sci. Technol*, 26 (2)
- Muchroji., Y.A, Cahyana,(2008).*Budidaya Jamur Tiram*. Jakarta: PT Penebar Swadaya.
- Mun'im, A., Azizahwati, Trastiana.(2008). Aktivitas Antioksidan Cendawan Suku Pleurotaceae dan Polyporaceae dari Hutan UI. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5 (1), 36-41.
- Pine Stanley, H.,(1988), *Kimia Organik 2*, diterjemahkan oleh Roehyati Joedodibroto dan Sasanti W. Purbo Hadiwidjoyo, Terbitan ke empat. Bandung : Penerbit ITB.
- Pokorni.(2001), *Antioxidant in Food; Practical Applications*. New York : CRC Press.
- Prakash, A., Rigelhof, F., dan Miller, E., (2010) , *Antioxidant Activity*. September 14, 2011. <http://www.medallionlabs.com>,
- Witt, S., Lalk, M., Hager, C., dan Voigt, B., 2010, DPPH-Test: Determination of Scavenger Properties. *Antioxidant Activity*. September 14, 2011. <http://www.baltic-analytics.de/index.php?id=7&L=1>
- R, Radhika.,et al. (2008). Studies on the Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Three *Pleurotus* Sp Collected Indigenously. *J. Mol. Biol. Biotechnol*, 1,20-29.
- Rohman, A., Sugeng, R., Dahliyanti, R. and Pratomo, D.B., (2009). Penangkapan radikal 2,2-difenil-1-fenilhidrazil oleh buah jambu biji (*Psidium guajava* L) dan Belimbing manis (*Averrhoa carambola* L). *Jurnal Ilmiah Farmasi Indonesia*,7(1), 1-5.
- Shivaprasad, H. N., S. Mohan, M. D. Kharya, M. R. Shiradkar, & K. Lakshman., (2005). *In-vitro models for antioxidant activity evaluation: A review*. 5 Desember 2009. <http://www.pharmainfo.net/reviews/vitro-models-antioxidant-activity-evaluation-review>.

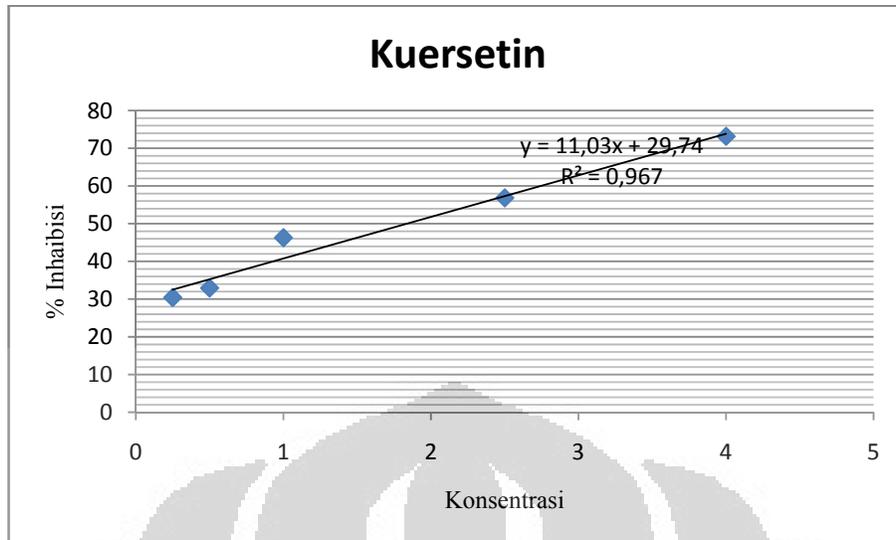
- Silverstein, Robert M. and Francis X. Webster. (1996). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Sixth Edition. New York : John Wiley & Sons, Inc.
- Stahl,E., (1969). *Apparatus and general techniques in TLC*. Dalam : Stahl, E.(ed). Thin layer chromatography a laboratory handbook. Terj. Dari Dunnschicht chromatographie, oleh Ashworth, M.R.F. Berlin: springer-Verlag.
- Takashi. Miyake and Takayumi Shibamoto., (1997). Antioxidant activities of natural compound found in plants. *J. Agric. Food. Chem*,45,1819-1822.
- Teyler.V.E.et.al. (1988). *Pharmacognosy* 9th Edition. Philadelphia : Lea & Febiger.
- Trease, G.E dan Evans, W.C. (1978). *Pharmacognosy* 11th Edition. London: Bailliere Tindall.
- Touchstone, J.C., M.F. Dobbins., (1983). *Practice of thin layer chromatography*. Canada : John Wiley & Sons, 2-12.
- Venkatakrishnan,V., Shenbhagaraman., dan Kaviyaran V.,(2009) Antioxidant and Antiproliferatif Effect of *Pleurotus ostreatus*. P. *Journal of Phytology*,79,274-285.
- Wahyuningsih, M.S.H., et al. (2008). Eksplorasi Tumbuhan dari Hutan Kalimantan Tengah sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Biodiversitas* 9, 169-172.
- Wasser, S.P.(2002). Review of medicinal mushroom advances Good news from old allies. *Herbal Gram* ,56,2833.
- Windono, T., (2001), *Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1, 1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (vitis vinifera) Probolinggo biru dan Bali*, Artikel Hasil Penelitian, *Artocarpus*, Vol I no.1. Surabaya: Fakultas Farmasi UNAIR
- Yang J-H, Lin H-C, Mau J-L (2002) Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem* ,77, 229–35.



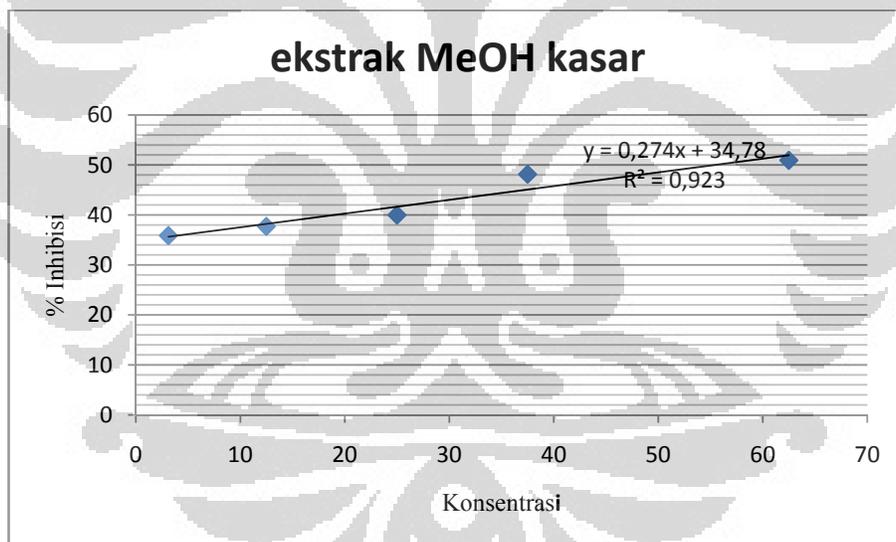
Gambar 2.2. Tempat tumbuh *Pleurotus ostreatus*



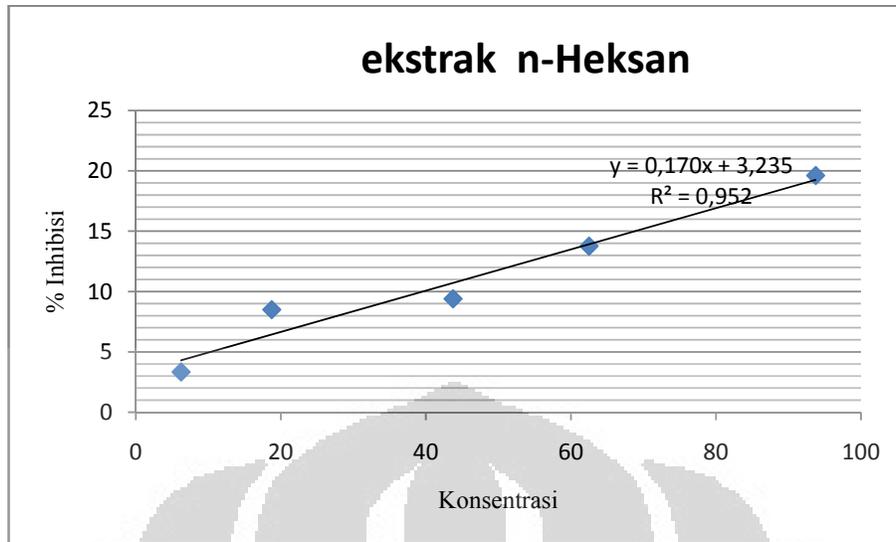
Gambar 2.3. Tudung dan tangkai *Pleurotus ostreatus*



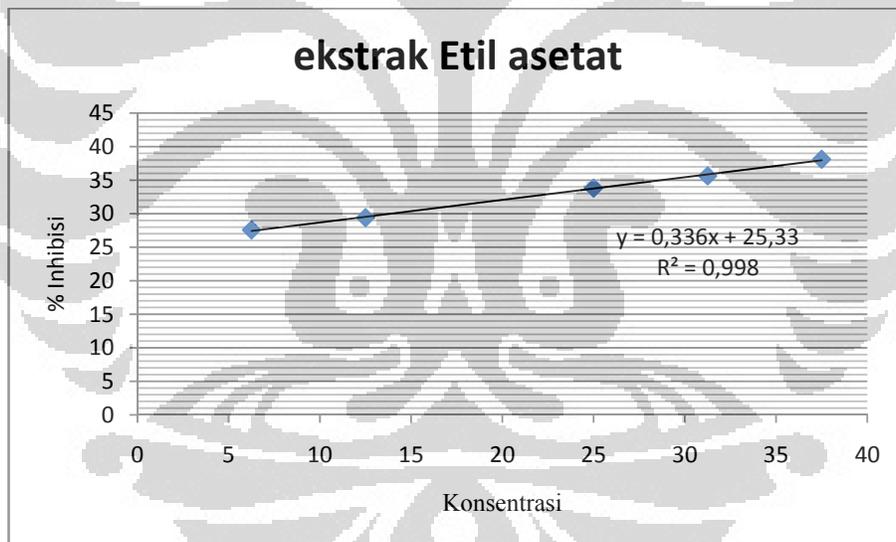
Gambar 4.1. Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan kuersetin



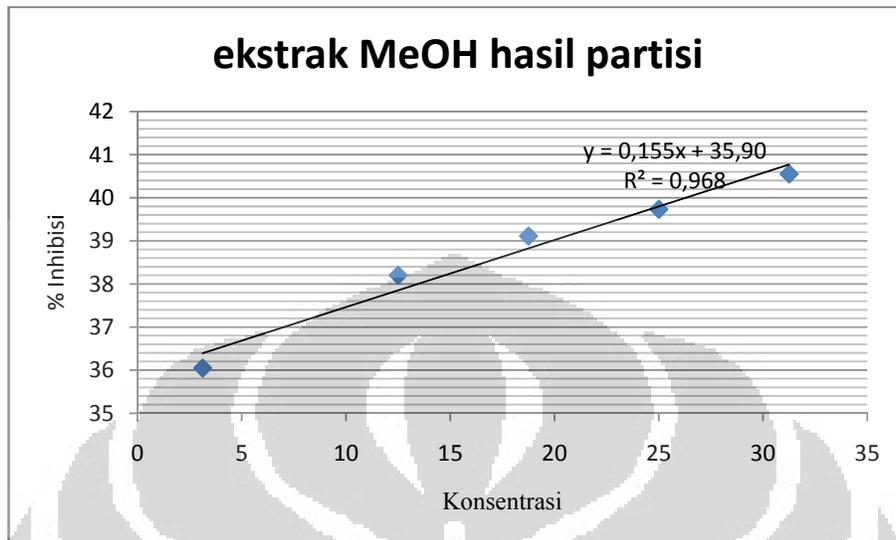
Gambar 4. 2. Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan ekstrak Metanol kasar



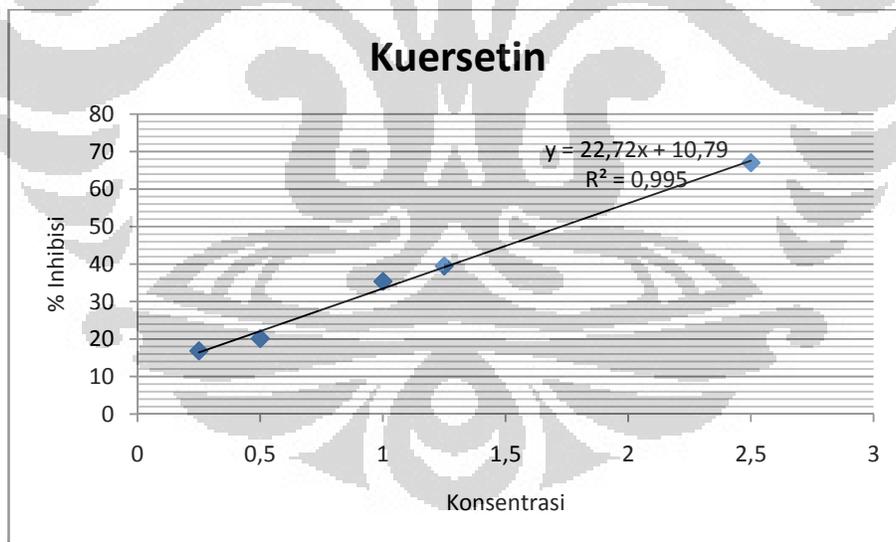
Gambar 4. 3 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan ekstrak n-Heksan



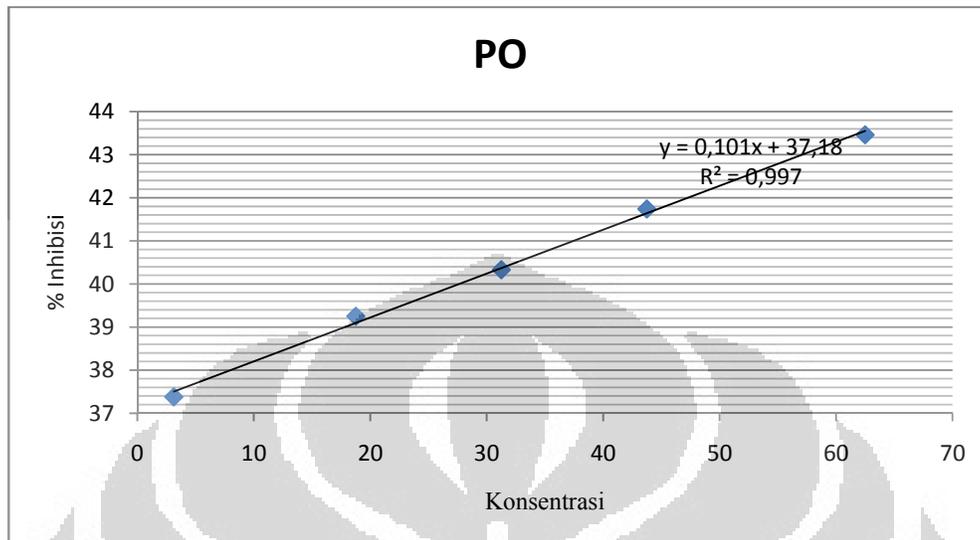
Gambar 4. 4 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan ekstrak Etil asetat



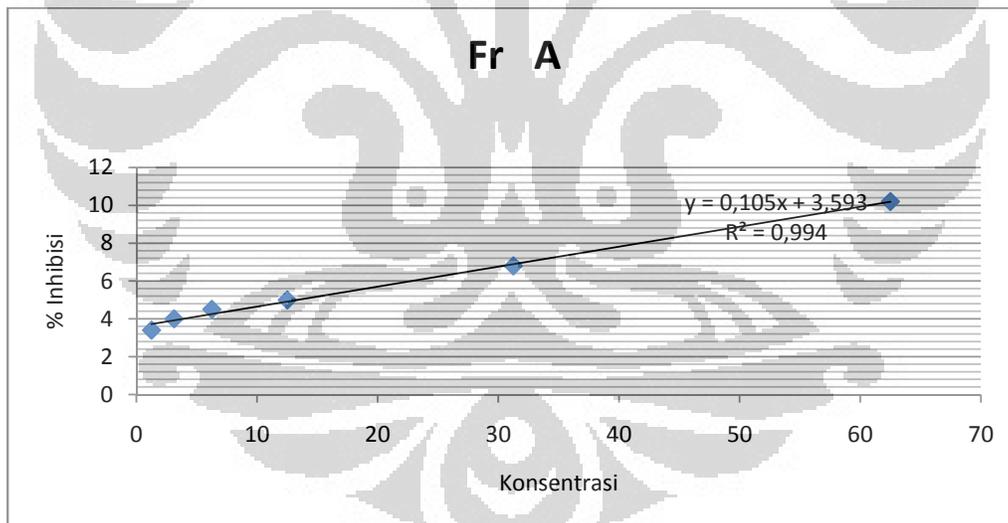
Gambar 4.5 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan ekstrak MeOH hasil partisi



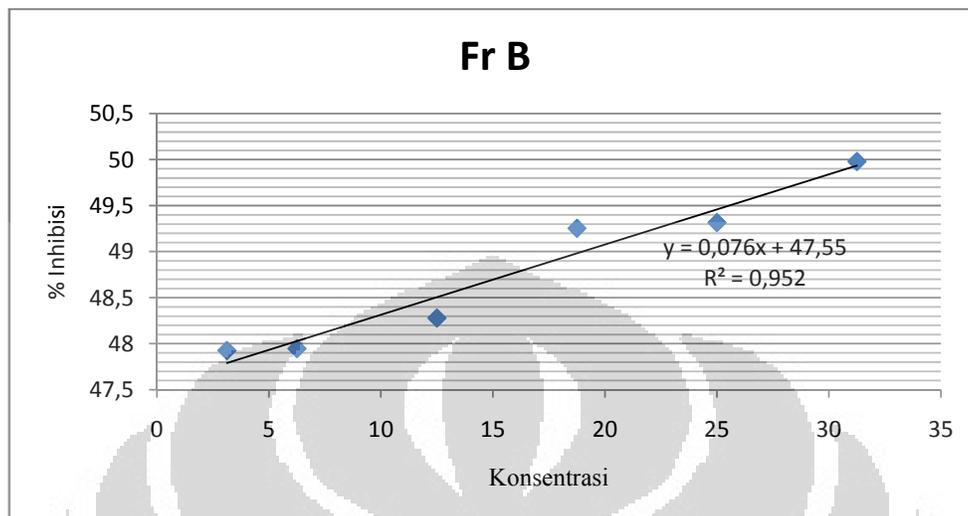
Gambar 4.6 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Kuersetin



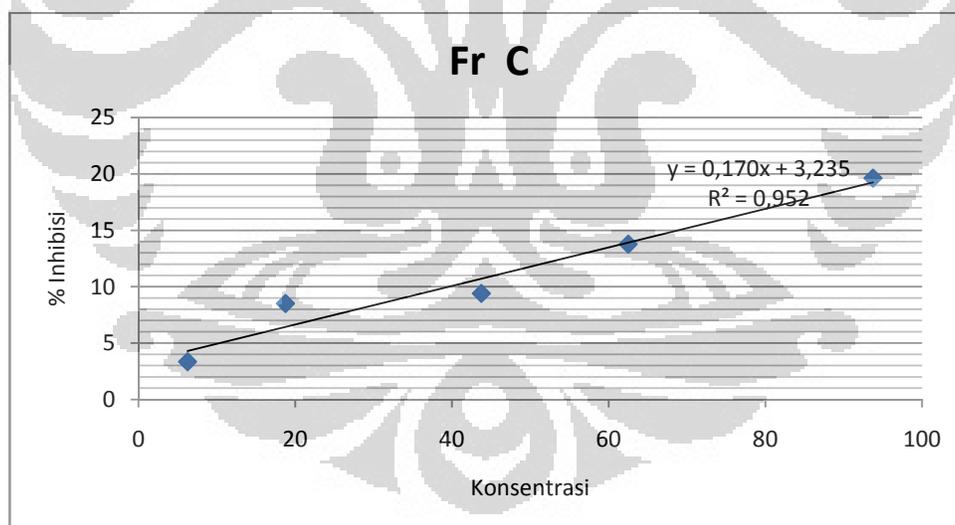
Gambar 4.7 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Isolat PO



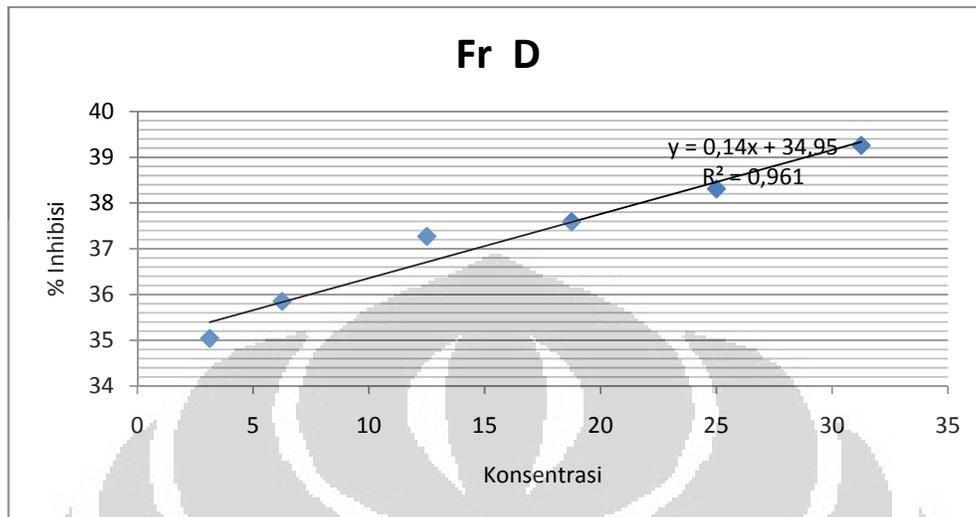
Gambar 4.8 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi A



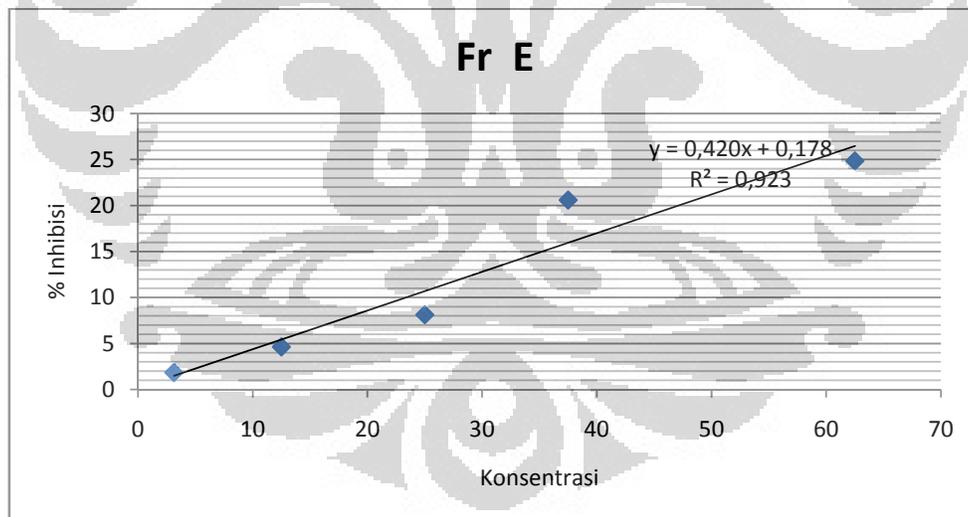
Gambar 4.9 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi B



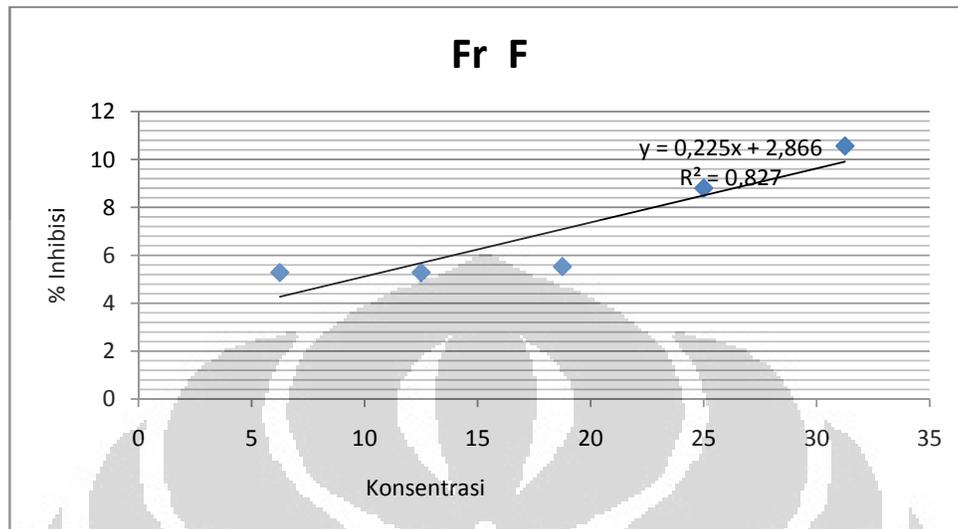
Gambar 4.10 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi C



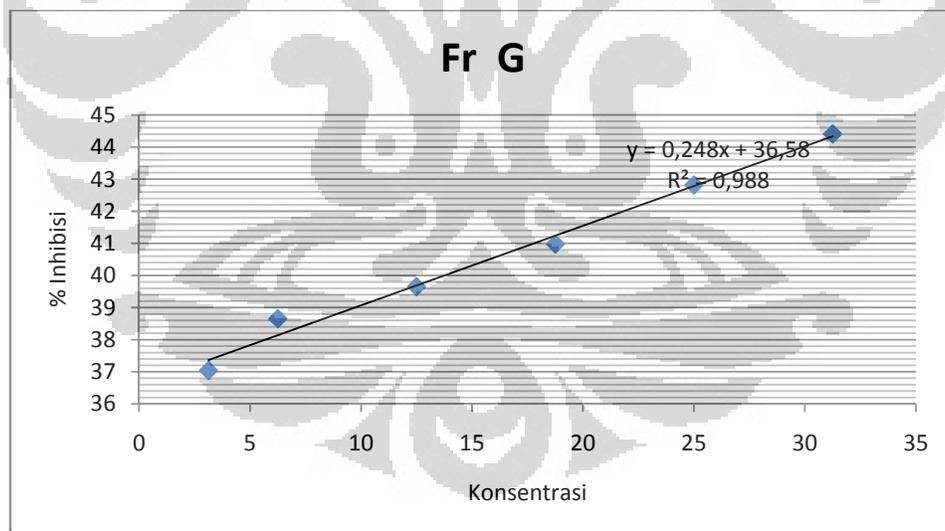
Gambar 4.11 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi D



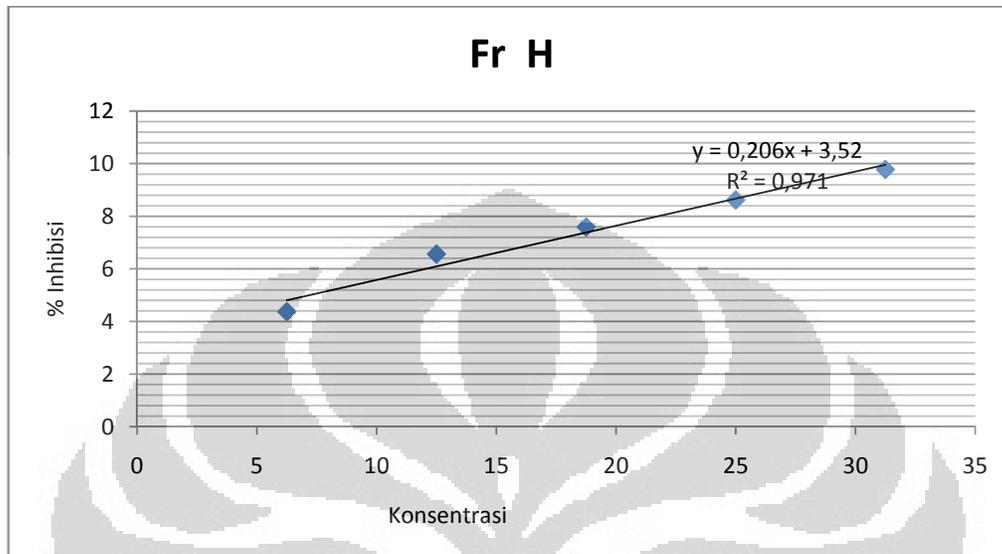
Gambar 4.12 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi E



Gambar 4.13 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi F



Gambar 4.14 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi G



Gambar 4.15 Kurva Konsentrasi dalam kuvet dan Konsentrasi penghambatan Fraksi H

Tabel 4.5 Data konsentrasi dan serapan Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
1	0,4808	0,691	0,25	30,41968
2	0,4633	0,691	0,5	32,95224
4	0,3712	0,691	1	46,28075
10	0,2981	0,691	2,5	56,85962
16	0,1853	0,691	4	73,18379

Tabel 4.6 Data konsentrasi dan serapan ekstrak Metanol Kasar

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
12,5	0,3091	0,482	3,125	35,87137
50	0,3003	0,482	12,5	37,6971
100	0,2893	0,482	25	39,97925
150	0,25	0,482	37,5	48,13278
250	0,2366	0,482	62,5	50,91286

Tabel 4.7 Data konsentrasi dan serapan ekstrak n-Heksan

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
25	0,2863	0,2962	6,25	3,342336
75	0,271	0,2962	18,75	8,507765
175	0,2683	0,2962	43,75	9,419311
250	0,2554	0,2962	62,5	13,77448
375	0,2476	0,2962	93,75	19,62783

Tabel 4.8 Data konsentrasi dan serapan ekstrak Etil asetat

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
25	0,3491	0,5487	6,25	27,57
50	0,3402	0,5487	12,5	29,41
100	0,316	0,5487	25	33,82
125	0,3102	0,5487	31,25	35,64
150	0,2982	0,5487	37,5	38,13

Tabel 4.9 Data konsentrasi dan serapan ekstrak Metanol hasil partisi

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
12,5	0,3509	0,5487	3,125	36,04884
50	0,3391	0,5487	12,5	38,19938
75	0,3341	0,5487	18,75	39,11063
100	0,3307	0,5487	25	39,73027
125	0,3262	0,5487	31,25	40,55039

Tabel 4.10 Data konsentrasi dan serapan Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
1	0,326	0,392	0,25	16,85
2	0,3131	0,392	0,5	20,14
4	0,2534	0,392	1	35,37
5	0,2372	0,392	1,25	39,5
10	0,1084	0,392	2,5	67,06

Tabel 4.11 Data konsentrasi dan serapan isolat PO

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
12,5	0,2897	0,3907	3,125	37,38
75	0,286	0,3907	18,75	39,25
125	0,2799	0,3907	31,25	40,33
175	0,2745	0,3907	43,75	41,74
250	0,2708	0,3907	62,5	43,46

Tabel 4.12 Data konsentrasi dan serapan Fraksi A

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
5	0,722	0,748	1,25	3,4
12,5	0,718	0,748	3,125	4
25	0,714	0,748	6,25	4,5
50	0,71	0,748	12,5	5
125	0,697	0,748	31,25	6,8
250	0,671	0,748	62,5	10,2

Tabel 4.13 Data konsentrasi dan serapan Fraksi B

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
12,5	0,3134	0,3907	3,125	19,78
25	0,2992	0,3907	18,75	23,41
50	0,295	0,3907	31,25	24,49
125	0,2798	0,3907	43,75	28,38
250	0,2766	0,3907	62,5	29,2

Tabel 4.14 Data konsentrasi dan serapan Fraksi C

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
25	0,2863	0,2965	6,25	3,34
75	0,271	0,2965	18,75	8,5
175	0,2683	0,2965	43,75	9,4
250	0,2554	0,2965	62,5	13,77
375	0,2476	0,2965	93,75	19,62

Tabel 4.15 Data konsentrasi dan serapan Fraksi D

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
12,5	0,2538	0,3907	3,125	35,04
25	0,2506	0,3907	6,25	35,85
50	0,2451	0,3907	12,5	37,27
75	0,2438	0,3907	18,75	37,59
100	0,241	0,3907	25	38,31
125	0,2373	0,3907	31,25	39,26

Tabel 4.16 Data konsentrasi dan serapan Fraksi E

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
12,5	0,3091	0,482	3,125	1,84
50	0,3003	0,482	12,5	4,63
100	0,2893	0,482	25	8,13
150	0,25	0,482	37,5	20,6
250	0,2366	0,482	62,5	24,86

Tabel 4.17 Data konsentrasi dan serapan Fraksi F

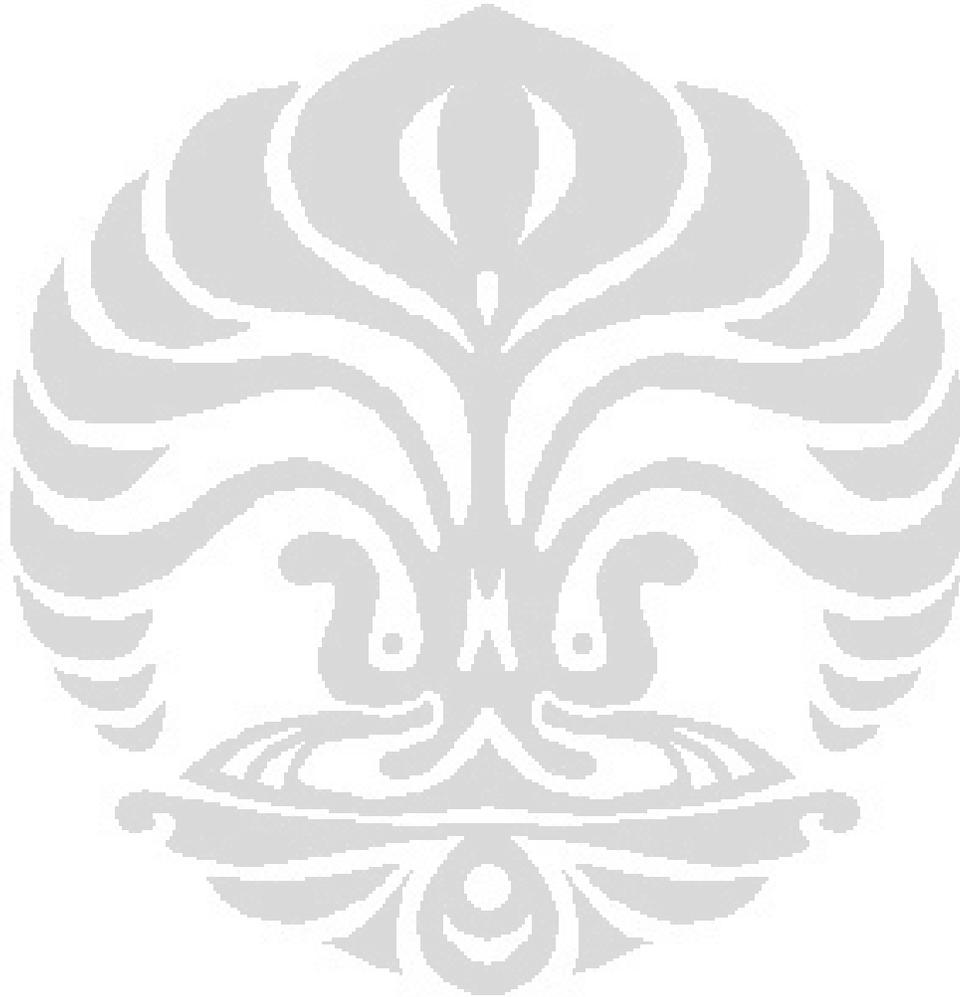
Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
25	0,753	0,759	6,25	5,28
50	0,751	0,759	12,5	5,28
75	0,731	0,759	18,75	5,53
100	0,725	0,759	25	8,8
125	0,711	0,759	31,25	10,56

Tabel 4.18 Data konsentrasi dan serapan Fraksi G

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
12,5	0,246	0,3907	3,125	37,04
25	0,2397	0,3907	6,25	38,65
50	0,2358	0,3907	12,5	39,65
75	0,2305	0,3907	18,75	40,98
100	0,2234	0,3907	25	42,82
125	0,2172	0,3907	31,25	44,41

Tabel 4.19 Data konsentrasi dan serapan Fraksi H

Konsentrasi (ppm)	Serapan Sampel (A)	Serapan Blanko (A)	Konsentrasi dalam kuvet	% Inhibisi
25	0,743	0,777	6,25	4,37
50	0,726	0,777	12,5	6,56
75	0,718	0,777	18,75	7,59
100	0,71	0,777	25	8,62
125	0,701	0,777	31,25	9,78



Lampiran 1. Hasil Determinasi *Pleurotus ostreatus*



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 12 Agustus 2011

Nomor : 1179/IPH.1.02/If.8/VIII/2011
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). dr. Riani Hapsari
 NPM : 1006787262
 Mhs. Univ. Indonesia
 Fak. MIPA
 Kampus UI Depok, 16424

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Jamur Tiram	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Pleurotaceae

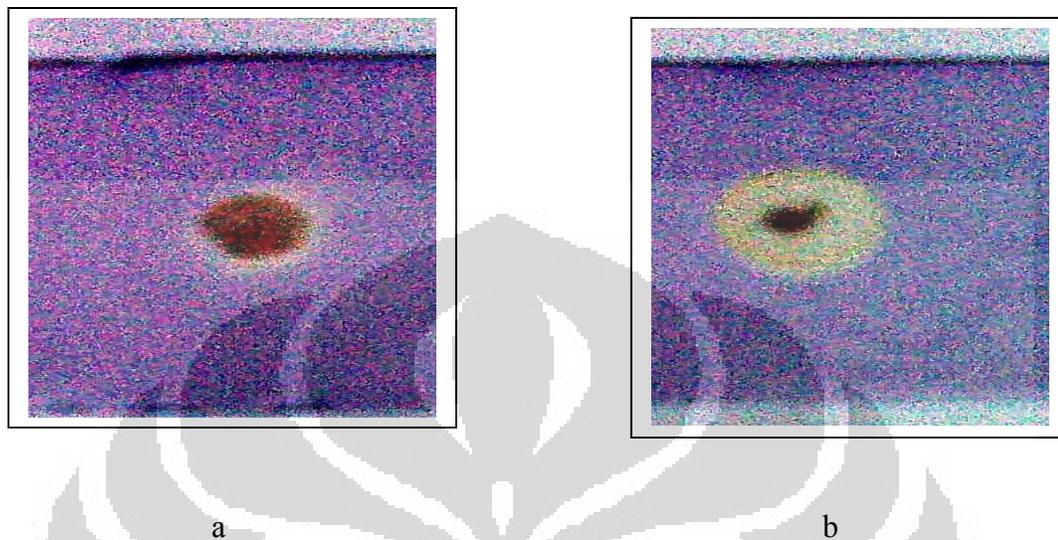
Demikian, semoga berguna bagi Saudara.


 Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,
 Dr. Joeni Setijo Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

D:\Ident 2011\Dr. Riani Hapsori.doc\Atik

Page 1 of 1

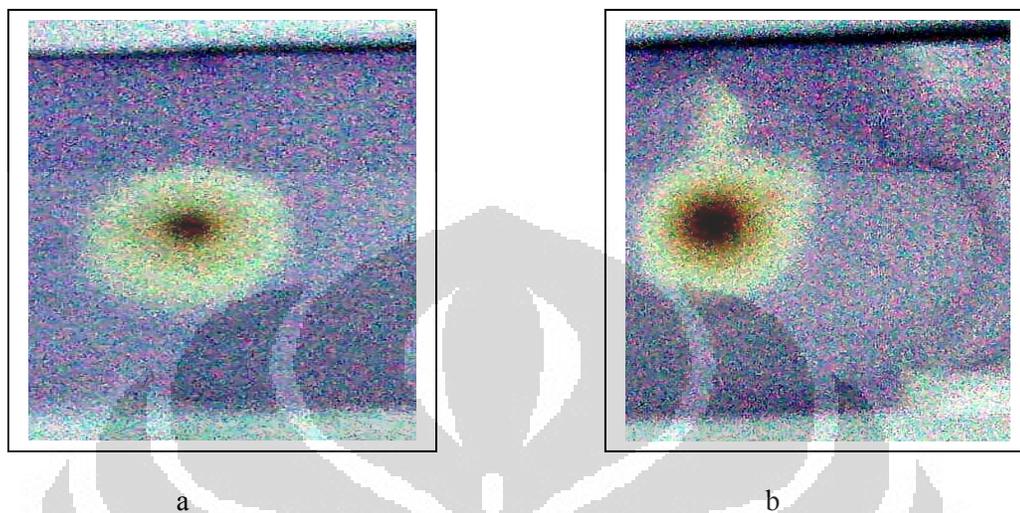
Lampiran 2. Penyemprotan Ekstrak dengan DPPH



Keterangan :

- a. Ekstrak n-Heksan hasil partisi dengan menggunakan penyemprot DPPH.
- b. Ekstrak etil asetat hasil partisi dengan menggunakan penyemprot DPPH.

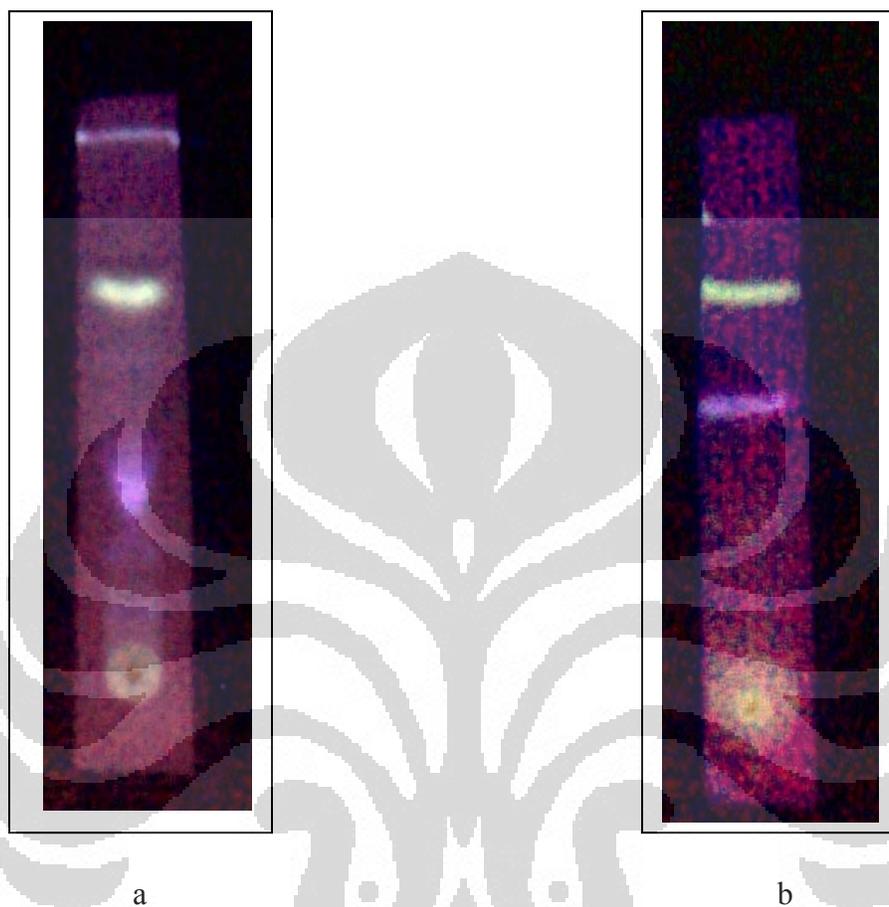
Lampiran 3. Penyemprotan Ekstrak dengan DPPH



Keterangan :

- a. Ekstrak metanol hasil partisi dengan menggunakan penyemprot DPPH.
- b. Ekstrak metanol dengan menggunakan penyemprot DPPH.

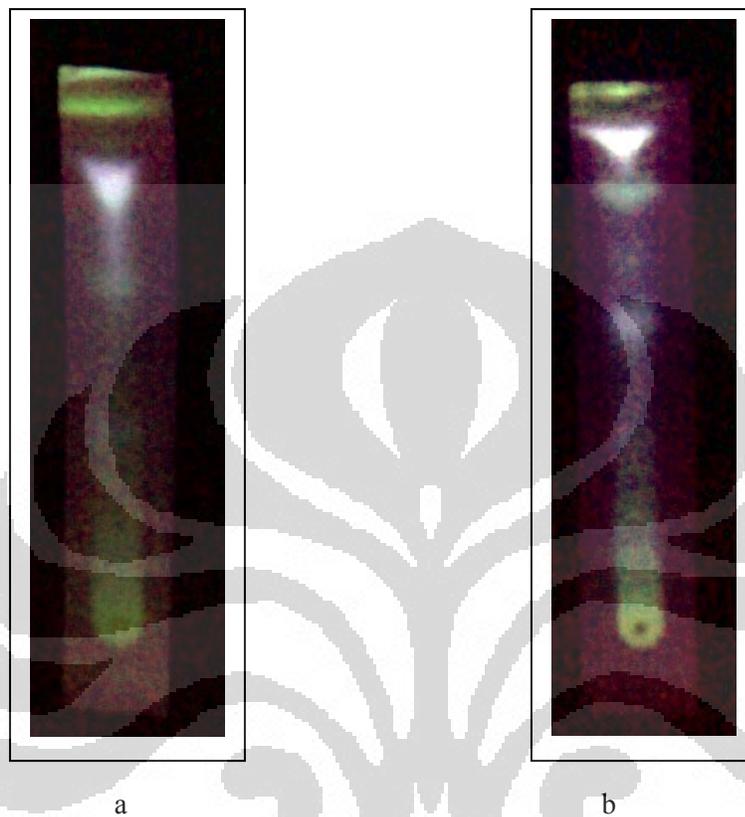
Lampiran 4. Profil KLT



Keterangan :

- a. Profil KLT ekstrak etil asetat dengan fase diam silika gel 60 F 254 dan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (9:1) dilihat dibawah Lampu UV 366 nm.
- b. Profil KLT ekstrak etil asetat dengan fase diam silika gel 60 F 254 dan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (8:2) dilihat dibawah Lampu UV 366 nm.

Lampiran 5. Profil KLT



Keterangan :

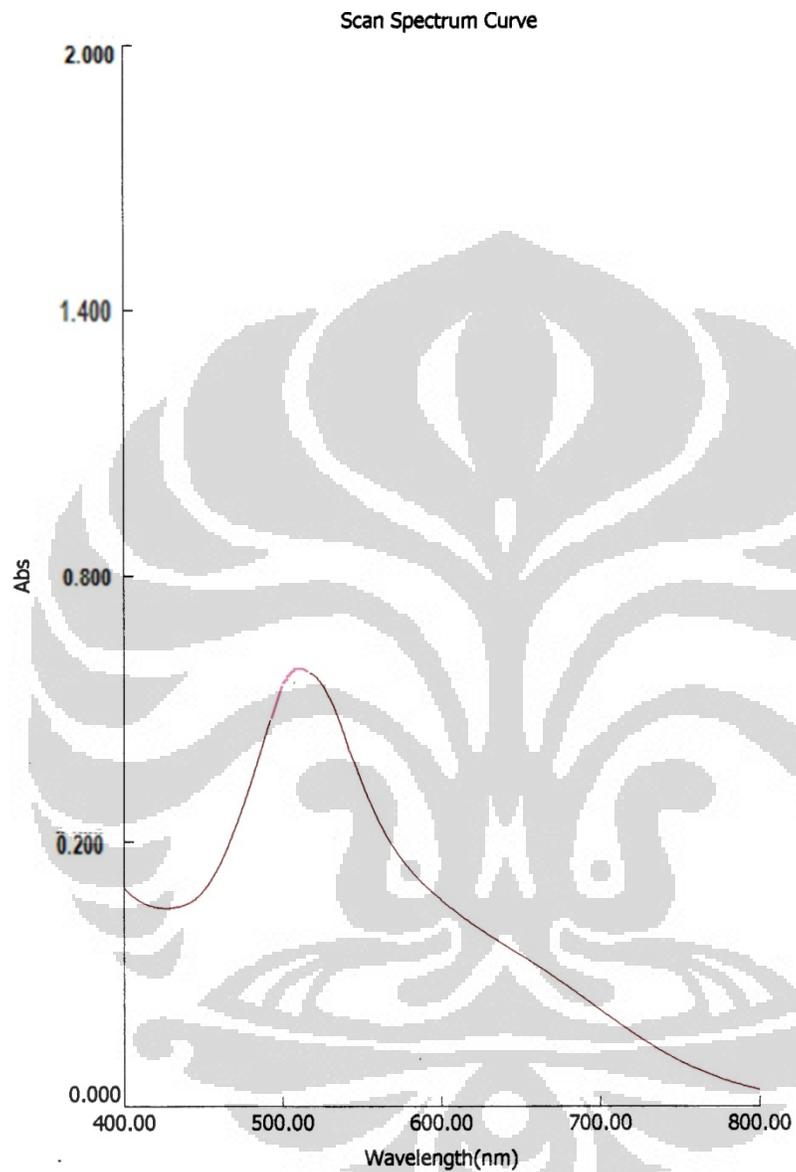
- Profil KLT ekstrak etil asetat dengan fase diam silika gel 60 F 254 dan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (7:3) dilihat dibawah Lampu UV 366 nm.
- Profil KLT ekstrak etil asetat dengan fase diam silika gel 60 F 254 dan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (6:4) dilihat dibawah Lampu UV 366 nm.

Lampiran 6. KLT identifikasi senyawa PO

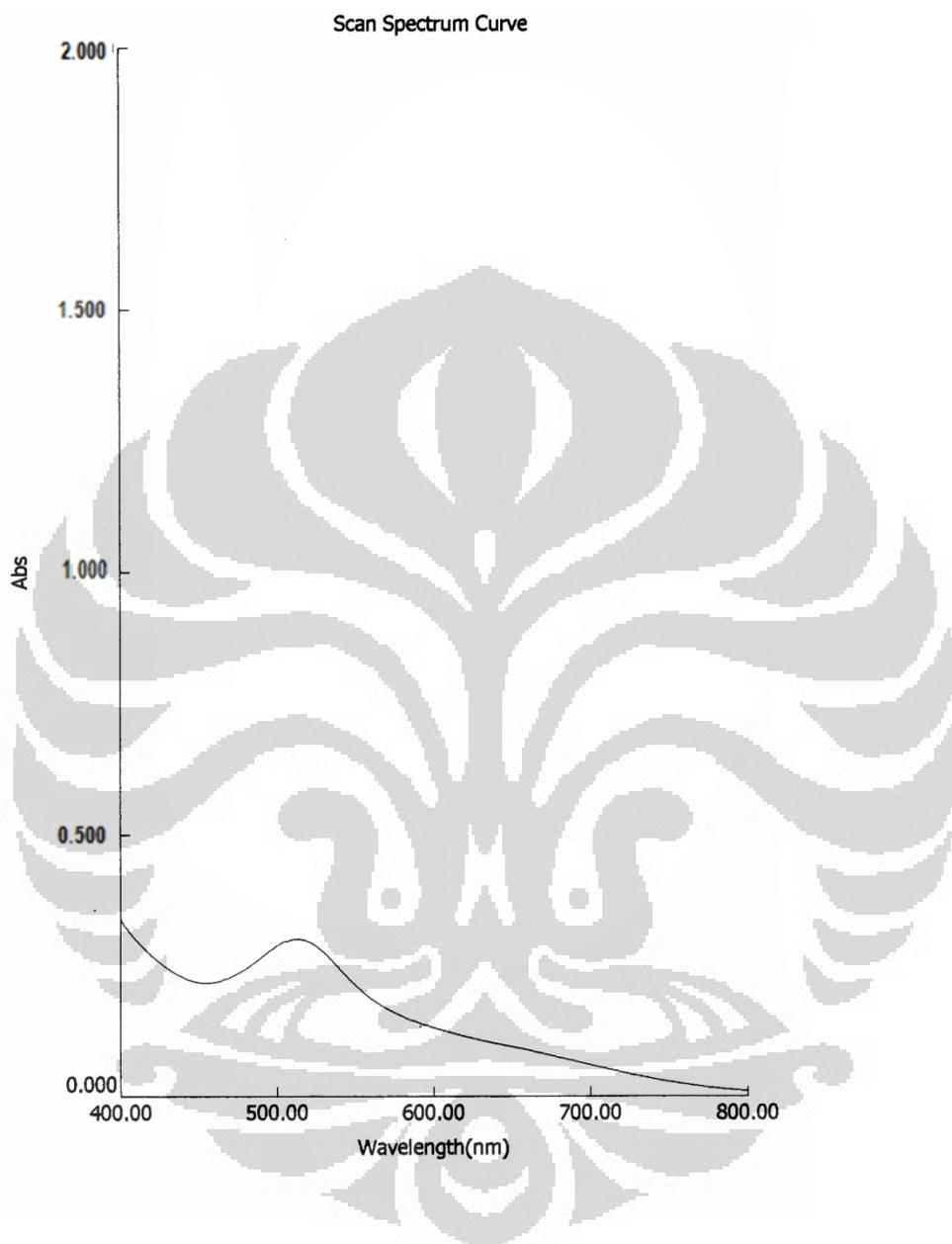


Keterangan :

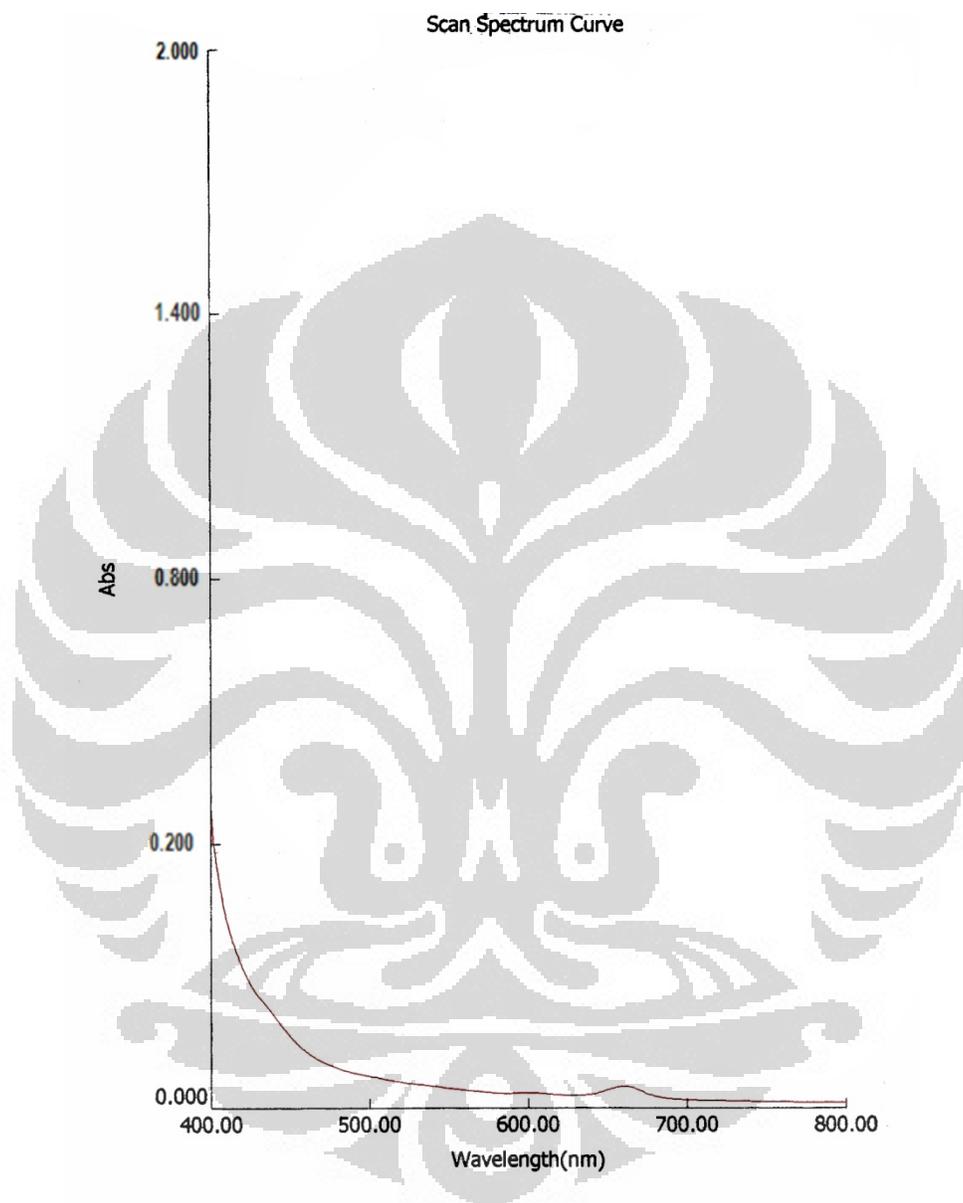
KLT identifikasi senyawa PO fase diam silika gel 60 F 254 dan eluen *n*-heksan : etil asetat (9:1), dengan penyemprotan vanilin- H_2SO_4

Lampiran 7. Spektrum Serapan Larutan DPPH 25 $\mu\text{g/mL}$ Dalam Metanol

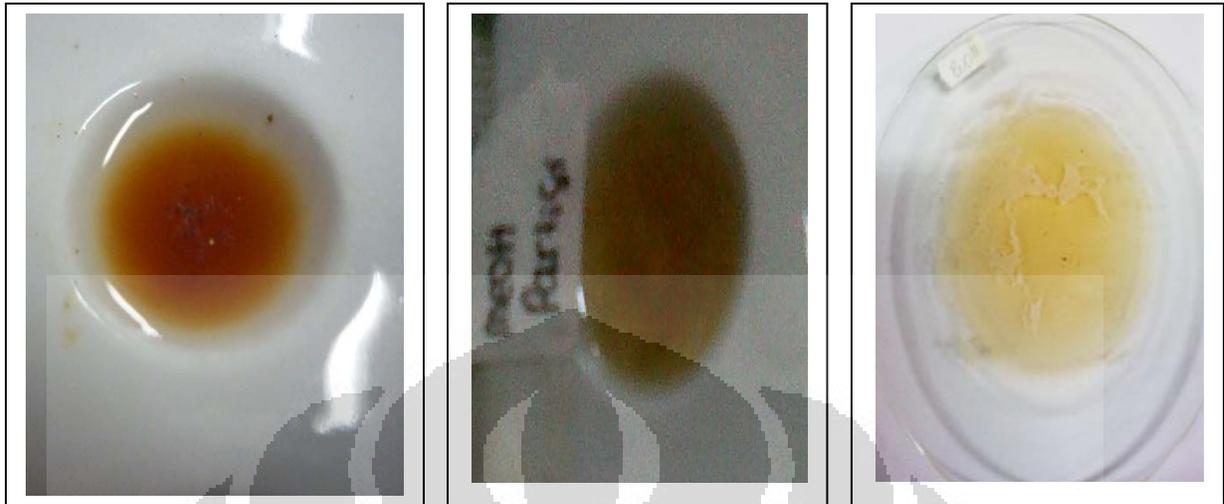
Lampiran 8. Spektrum Serapan Larutan DPPH dengan Ekstrak Etil asetat 75 $\mu\text{g/mL}$ Dalam Metanol



Lampiran 9. Spektrum Serapan Larutan DPPH dengan Ekstrak Etil asetat 1000 $\mu\text{g/mL}$
Dalam Metanol



Lampiran 10. Hasil uji penapisan fitokimia



a

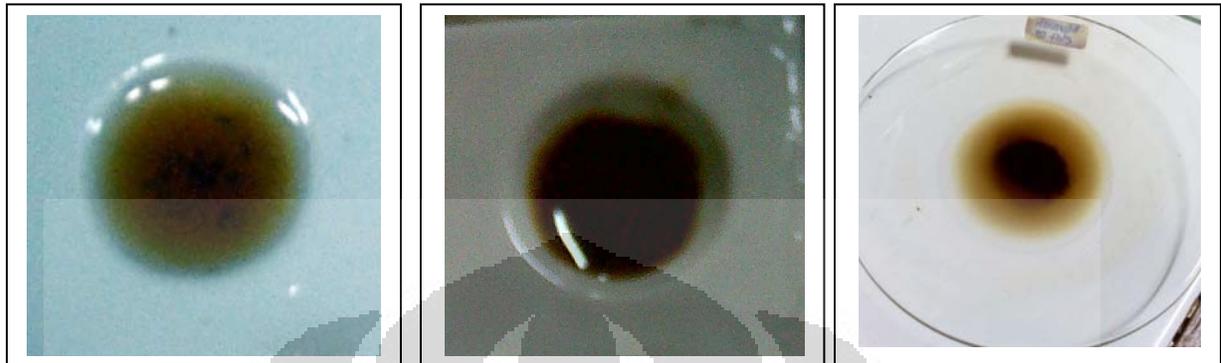
b

c

Keterangan :

- a. Ekstrak metanol dengan pereaksi bouchardat
- b. Ekstrak metanol hasil partisi dengan pereaksi bouchardat
- c. Blangko positif chinae cortex dengan pereaksi bouchardat

Lampiran 11. Hasil uji penapisan fitokimia



a

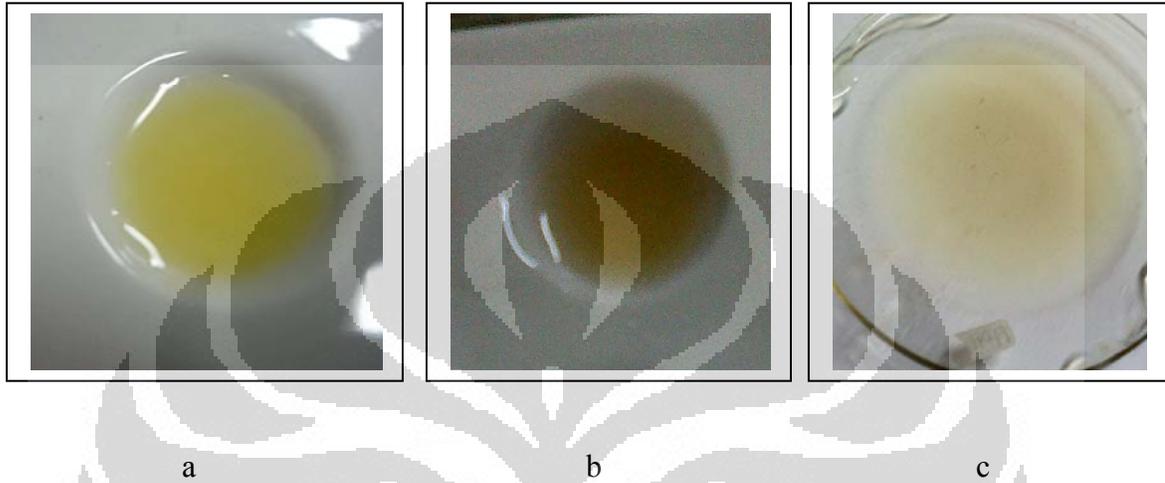
b

c

Keterangan :

- a. Ekstrak metanol dengan pereaksi Dragendorff
- b. Ekstrak metanol hasil partisi dengan pereaksi Dragendorff
- c. Blangko positif chinae cortex dengan pereaksi dragendorff

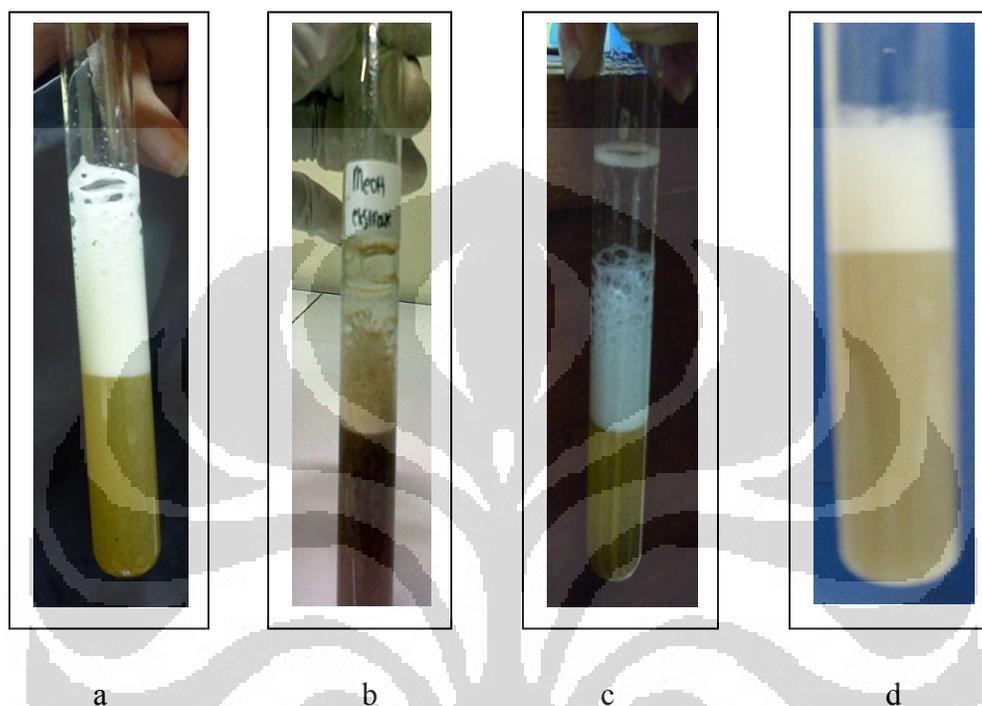
Lampiran 12. Hasil uji penapisan fitokimia



Keterangan :

- a. Ekstrak metanol dengan pereaksi mayer
- b. Ekstrak metanol hasil partisi dengan pereaksi mayer
- c. Blangko positif chinae cortex dengan pereaksi mayer

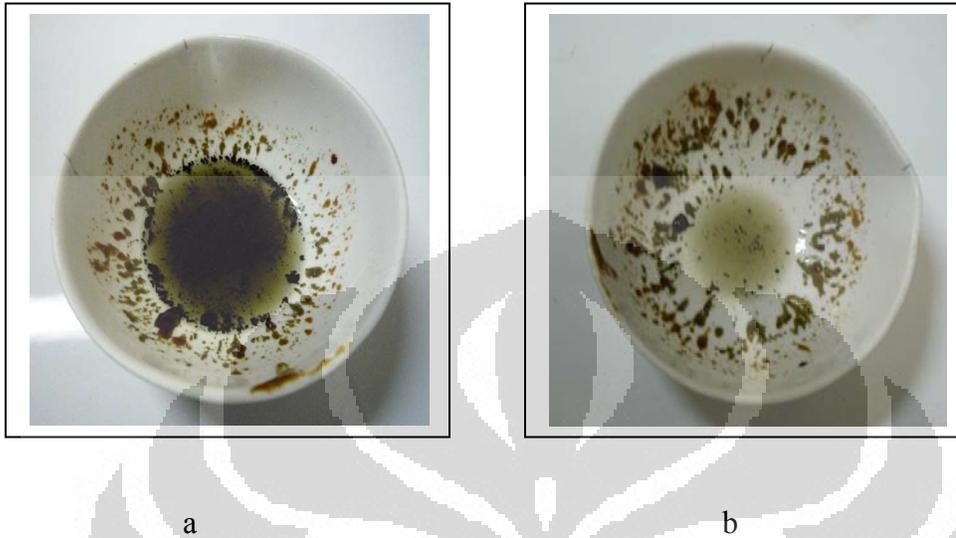
Lampiran 13. Hasil uji penapisan fitokimia



Keterangan :

- a. Ekstrak metanol hasil uji identifikasi saponin
- b. Ekstrak metanol partisi hasil uji identifikasi saponin
- c. Ekstrak etil asetat partisi hasil uji identifikasi saponin
- d. Blangko positif rhei radix partisi hasil uji identifikasi saponin

Lampiran 14. Hasil uji penapisan fitokimia



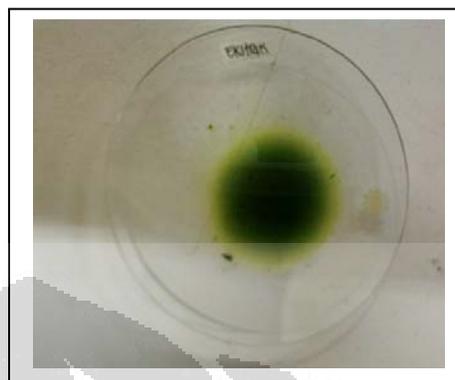
Keterangan :

- a. Ekstrak metanol hasil uji identifikasi Terpen/Steroid
- b. Ekstrak etil asetat partisi hasil uji identifikasi Terpen/Steroid

Lampiran 15. Hasil uji penapisan fitokimia



a



b

Keterangan :

- a. Ekstrak n-Heksan hasil uji identifikasi Terpen/Steroid
- b. Blangko positif herba patikan kerbau hasil uji identifikasi Terpen/Steroid