



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
Garcinia lateriflora Blume var. *javanica* Boerl. DENGAN
METODE DPPH DAN IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA
DARI FRAKSI YANG AKTIF**

SKRIPSI

**IIN MARLIN SIMIATI
0906601430**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
Garcinia lateriflora Blume var. *javanica* Boerl. DENGAN
METODE DPPH DAN IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA
DARI FRAKSI YANG AKTIF**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
sarjana farmasi**

**IIN MARLIN SIMIATI
0906601430**

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Iin Marlin Simiati

NPM : 0906601430

Tanda Tangan : 

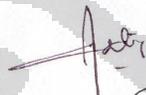
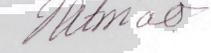
Tanggal : 19 Januari 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Iin Marlin Simiati
NPM : 0906601430
Program Studi : Ekstensi Farmasi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia dari Fraksi yang Aktif

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Dr. Katrin, M.S	()
Pembimbing II	: Dr. Berna Elya, M.Si	()
Penguji I	: Dr. Anton B, M.Biomed	()
Penguji II	: Dr. Arry Yanuar, MS	()
Penguji III	: Drs. Jahja Atmadja	()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 19 Januari 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa tanpa bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Dr. Katrin, MS., Apt. selaku pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
- (2) Dr. Berna Elya, M.Si. selaku pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
- (3) Nadia Farhanah Syafhan, S.Farm., M.Si. selaku pembimbing akademis yang telah membimbing dan membantu selama mengikuti perkuliahan di farmasi.
- (4) Dra. Azizahwati, MS., Apt selaku ketua program sarjana ekstensi farmasi yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama menempuh pendidikan di farmasi.
- (5) Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt. selaku ketua departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membimbing dan membantu selama mengikuti perkuliahan di farmasi.
- (6) Seluruh staff dan dewan pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas bantuan dan bimbingannya selama mengikuti perkuliahan.

- (7) Kedua orang tua, aan dan mia yang sangat saya sayangi beserta seluruh keluarga saya yang senantiasa memberi semangat, doa, serta dukungan material dan moral.
- (8) Sahabat-sahabat dan teman-teman seperjuangan di Fitokimia yang telah sangat membantu dan bekerja bersama-sama selama penelitian, serta seluruh teman-teman ekstensi angkatan 2009 di Farmasi UI atas kebersamaan yang indah.
- (9) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga kebaikan mereka mendapat balasan berlipat dari Tuhan Yang Maha Esa. Akhir kata, saya berharap semoga skripsi yang masih membutuhkan banyak masukan dan saran yang bersifat membangun ini, dapat berguna dan membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Iin Marlin Simiati

NPM : 0906601430

Program Studi : Ekstensi

Departemen : Farmasi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Jenis karya : Skripsi

demikian 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 Ekstrak Daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia dari Fraksi yang Aktif.”

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, 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 : 19 Januari 2012

Yang menyatakan



(Iin Marlin Simiati)

ABSTRAK

Nama : Iin Marlin Simiati
Program studi : Ekstensi Farmasi
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia dari Fraksi yang Aktif

Garcinia merupakan salah satu marga tumbuhan buah dalam suku Clusiaceae yang memiliki aktivitas antioksidan. Beberapa jenis dari marga ini telah diteliti memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan untuk *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. belum ditemukan literatur yang menyatakan bahwa pernah dilakukan penelitian terhadap jenis ini. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada λ 517 nm. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang semakin meningkat yaitu berturut-turut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Parameter adanya aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. ditunjukkan oleh nilai IC_{50} . Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak memiliki aktivitas antioksidan mulai dari yang tertinggi yaitu ekstrak metanol, etil asetat dan n-heksan dengan nilai IC_{50} berturut-turut 6,1767 ppm, 10,5881 ppm dan 61,9996 ppm. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan teraktif yaitu metanol dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom dipercepat, sehingga diperoleh sepuluh fraksi. Dari ke sepuluh fraksi tersebut fraksi E merupakan fraksi teraktif dengan nilai IC_{50} 4,8027 ppm. Identifikasi kimia pada fraksi E menunjukkan adanya senyawa antrakuinon, flavonoid, tanin, saponin, dan glikosida.

Kata Kunci : antioksidan, DPPH, fraksinasi, *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl., identifikasi senyawa kimia
xiv + 53 halaman : 11 gambar, 10 tabel, 3 lampiran
Daftar referensi : 35 (1966-2011)

ABSTRACT

Nama : Iin Marlin Simiati
Program studi : Pharmacy Extension
Judul : Antioxidant Activity Test of Extract *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. Leaves by DPPH method and Identification of Chemical Compounds from Active Fraction.

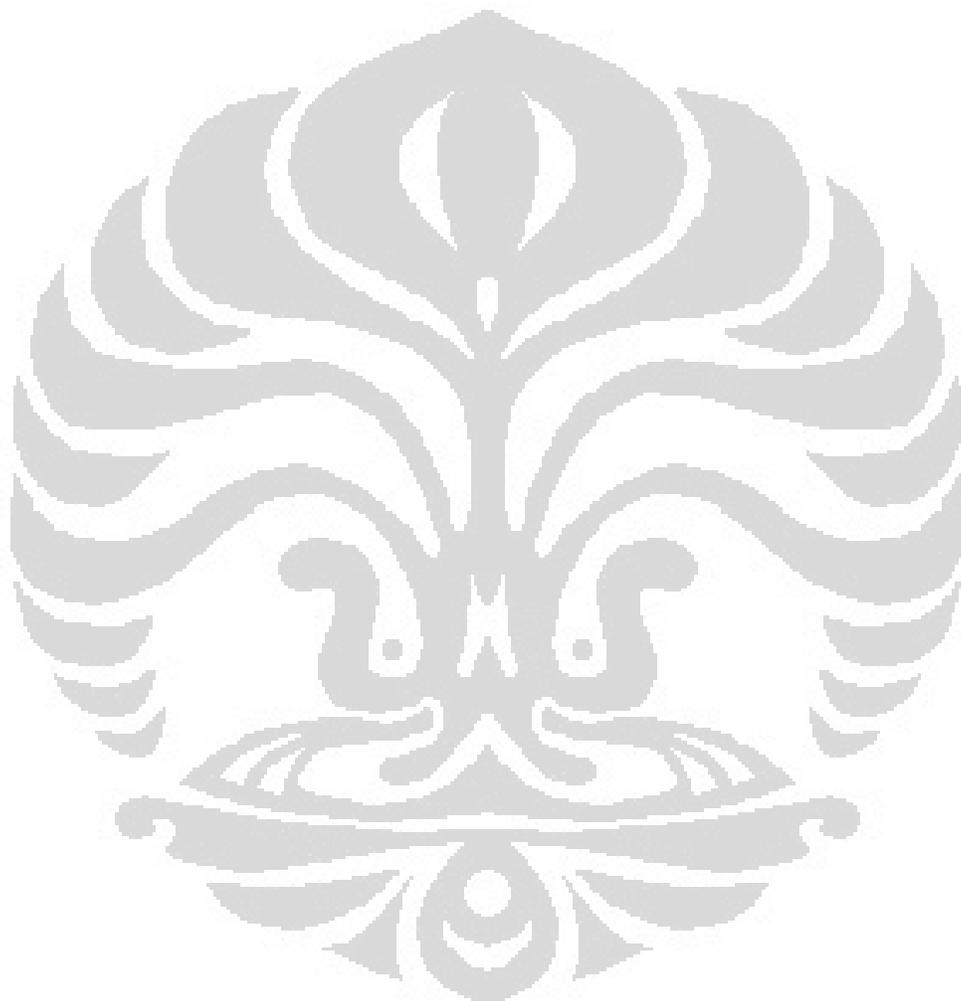
Garcinia is the fruit plants genus in Clusiaceae family. Some species of this genus have an antioxidant activity, but *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. has not been stated as an antioxidant plant in the literature. The aim of this research is to determine antioxidant activity from the leaves of *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) methode with spectrophotometer UV-Vis at λ 517 nm. Extraction had been done by maceration using solvents with polarity increasing started from n-hexane, ethyl acetate, and methanol. The parameters of antioxidant activity were indicated by IC₅₀ values. Test results of each extracts had an antioxidant activity . The highest antioxidant activity was methanol, followed with ethyl acetate, and then n-hexane extract with each IC₅₀ values were 6.1767 ppm, 10.5881 ppm and 61.9996 ppm. The extract with the highest antioxidant activity, methanol had been fractionated by using flash column chromatography and give ten fraction groups. The best antioxidant activity was showed by fraction E with IC₅₀ value was 4.8027 ppm. The chemical identification of fraction E showed the positive result for anthraquinones, flavonoids, tannins, saponins, and glycosides as their chemical compounds.

Key Word : antioxidant, DPPH, fractionation, *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl., identification of chemistry compound
xiv + 53 pages : 11 pictures, 10 tables, 3 appendixes
Bibliography : 35 (1966-2011)

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
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tanaman	4
2.2. Simplisia	7
2.3. Ekstrasi.....	8
2.4. Radikal Bebas	10
2.5. Antioksidan	11
2.6. Uji Aktivitas Antioksidan	12
2.7. Spektrofotometri UV-VIS.....	14
2.8. Penapisan Fitokimia	16
2.9. Kromatografi	18
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1. Waktu dan tempat	19
3.2. Bahan Uji	19
3.3. Bahan Kimia	19
3.4. Bahan Perbandingan	19
3.5. Alat	19
3.6. Cara Kerja.....	20
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Penyiapan Bahan	28
4.2. Ekstraksi Simplisia	28
4.3. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>G. lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl.....	29
4.4. Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun <i>G. lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl.....	31
4.5. Pemisahan Ekstrak Metanol daun <i>G. lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl. secara Kromatografi Kolom Dipercepat.....	33

4.6.	Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol	34
4.7.	Penapisan Fitokimia Fraksi Teraktif (Fraksi E).....	35
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....		36
5.1	Kesimpulan.....	36
5.2	Saran	36
DAFTAR REFERENSI		37



DAFTAR GAMBAR

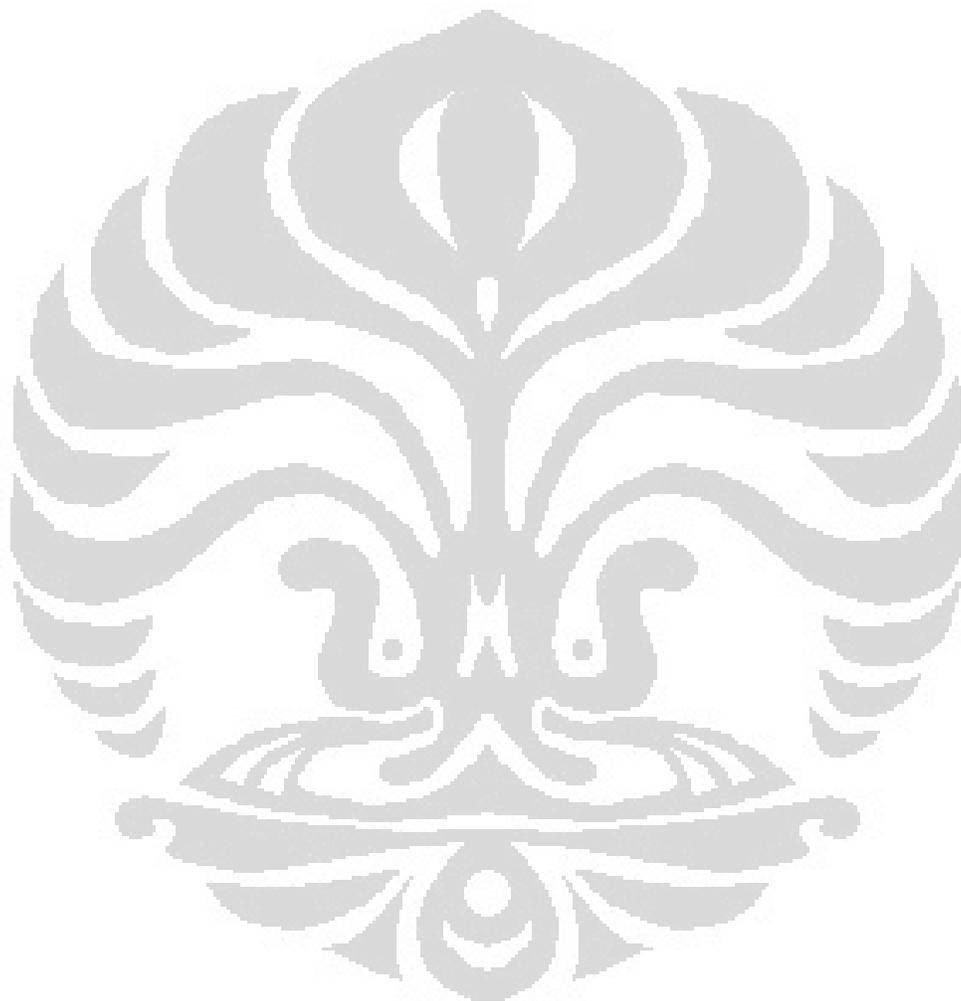
Gambar 2.1.	Reaksi Penangkapan Hidrogen Oleh DPPH dari Zat Antioksidan.....	13
Gambar 4.1.	Tanaman <i>G. lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl.....	40
Gambar 4.2.	Daun <i>G. lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl.....	40
Gambar 4.3.	Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Garcinia lateriflora</i> var. <i>javanica</i> Boerl.....	41
Gambar 4.4.	Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Fraksi-Fraksi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol.....	41
Gambar 4.5.	Hasil Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Flavonoid Ekstrak Metanol (a) dan Fraksi E (b) dengan Fase Diam Silica Gel F ₂₅₄ dan Fase Gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada Sinar UV 366 nm Setelah Disemprot dengan Pereaksi AlCl ₃ 5%.....	42
Gambar 4.6.	Kurva Hubungan Konsentrasi Standar kuersetin dengan % inhibisi..	43
Gambar 4.7.	Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak n-heksan dengan % inhibisi..	43
Gambar 4.8.	Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak etil asetat dengan % inhibisi..	44
Gambar 4.9.	Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak Metanol dengan % inhibisi....	44
Gambar 4.10.	Kurva Hubungan Konsentrasi Fraksi E dengan % inhibisi.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Susut Pengerangan.....	46
Tabel 4.2.	Rendamen Ekstrak Daun <i>G. lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl...	46
Tabel 4.3.	Data Serapan dan %Inhibisi Uji Aktivitas Antioksidan Standar Kuersetin.....	47
Tabel 4.4.	Data Serapan dan %Inhibisi Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>G.lateriflora</i> Blume var. <i>Javanic</i> Boerl.....	47
Tabel 4.5.	Data serapan dan % inhibisi uji aktivitas antioksidan fraksi E.....	48
Tabel 4.6.	Data Nilai IC ₅₀ Standar Kuersetin dan Ekstrak Daun <i>G. lateriflora</i> var. <i>javanica</i> Boerl.....	48
Tabel 4.7.	Data Nilai IC ₅₀ Fraksi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol.....	49
Tabel 4.8.	Data Penapisan Fitokima Ekstrak Daun <i>G. lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl.dan Fraksi Teraktif.....	49
Tabel 4.9.	Hasil Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Flavonoid Ekstrak Metanol dengan Fase Diam Silica Gel F ₂₅₄ dan Fase Gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada Sinar UV 366 nm Setelah Disemprot dengan Pereaksi AlCl ₃ 5%.....	50
Tabel 4.10.	Hasil kromatografi Lapis Tipis Senyawa Flavonoid Fraksi E dengan Fase Diam Silica Gel F ₂₅₄ dan Fase Gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada Sinar UV 366 nm Setelah Disemprot dengan Pereaksi AlCl ₃ 5%.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Skema Kerja	51
Lampiran 2.	Bagan Fraksinasi Ekstrak Metanol dengan Kromatografi Kolom Dipercepat.....	52
Lampiran 3.	Surat Determinasi	53



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah setiap molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif dan dengan mudah menjadi reaksi yang tidak terkontrol, menghasilkan ikatan silang (*cross-link*) pada DNA, protein, lipida atau kerusakan oksidatif pada gugus fungsional yang penting pada biomolekul ini. Perubahan ini akan menyebabkan proses penuaan. Radikal bebas juga berperan dalam patologi dari berbagai penyakit degeneratif yakni kanker, aterosklerosis, rematik, jantung koroner, katarak, dan penyakit degenerasi saraf seperti parkinson (Silalahi, J., 2006).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektrolit yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Prakash, A., 2001). Khusus untuk melindungi pengaruh radikal bebas, tubuh mempunyai sistem pertahanan yang meliputi enzim dan zat tertentu. Enzim katalase dan glutathion peroksidase berperan mengeluarkan H_2O_2 , superoksida dismutase (SOD) mengeluarkan O_2 dengan mengubahnya menjadi H_2O_2 . Akan tetapi, karena perkembangan industri yang pesat, manusia berkontak dengan berbagai sumber radikal bebas yang berasal dari lingkungan dan dari kegiatan fisik yang tinggi sehingga sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh tidak memadai. Ketidakseimbangan antara pengaruh degeneratif dari ROS (*reactive oxygen species*) dengan pertahanan antioksidan disebut *oxidative stress*. Maka dibutuhkan tambahan antioksidan yang cukup karena *oxidative stress* yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan sel dan bahkan kematian (Silalahi, J., 2006).

Antioksidan dapat diperoleh secara sintetis dan dapat diisolasi dari tumbuhan. Antioksidan sintetis yang banyak dikenal adalah BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) dan BHA (*Butylated Hydroxy Anisole*) (Hernani dan Monoraharjo, 2005). Tetapi saat ini penggunaan antioksidan sintetis mulai dibatasi karena ternyata dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antioksidan sintetis seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) ternyata dapat

meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik (Takashi dan Takayuni, 1997). Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain yaitu antioksidan alami yang bersumber dari bahan alam. Antioksidan alami ini hampir terdapat pada semua tumbuh-tumbuhan yang tersebar di seluruh tanah air. Salah satu tumbuhan yang dilaporkan memiliki senyawa-senyawa aktif antioksidan adalah *Garcinia*.

Garcinia adalah salah satu dari marga tumbuhan buah dalam suku Guttiferae (Clusiaceae) dengan jumlah jenis yang banyak. marga tumbuhan ini terkenal dengan nama kelompok manggis-manggisan. Beberapa literatur menyatakan, saat ini di seluruh dunia terdapat sekitar 400 jenis *Garcinia* (Rukmana, R., 2007), tersebar di daerah dataran rendah hutan tropis Asia, Afrika, New Caledonia, dan Polynesia. Di Indonesia sekitar 91 jenis tersebar di pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, dan Maluku. Beberapa jenis dari marga ini telah diteliti secara berkesinambungan baik kandungan kimia maupun aktivitas biologinya. Pada marga *Garcinia* ini banyak ditemukan senyawa santon, benzofenon, flavonoid dan terpenoid yang bersifat anti bakteri, antioksidan, dan antikanker. Senyawa antioksidan yang ditemukan pada marga ini menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi, dibandingkan dengan senyawa antioksidan yang sudah dikenal (Muharni, Supriyatna, Husein H.B, dan Dachariyanus, 2009).

Adapun beberapa jenis *Garcinia* yang telah diteliti memiliki efek antioksidan diantaranya *Garcinia Dulcis* (Roxb.) Kurz. (kulit batang) (Sukamat dan Taslim, E., 2006), *Garcinia mangostana* (kulit buah) (Limei Yu, Mouming Zhao, Bao Yang, Qiangzhong Zhao, Yueming Jiang, 2007), *Garcinia kola* (biji) (Tebekeme, O., 2009). Sedangkan untuk *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl belum ditemukan literatur yang menyatakan bahwa pernah dilakukan penelitian terhadap jenis ini. Maka dicoba untuk meneliti daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. yang diharapkan dapat memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-2-pikrilhidrazil).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dan mengidentifikasi golongan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi yang aktif.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi data mengenai tanaman *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. yang masih terbatas. Selain itu, diharapkan juga dapat mendorong penemuan antioksidan baru dari bahan alam sehingga dapat mengurangi penggunaan antioksidan sintetik.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman

2.1.1 Marga *Garcinia*

Garcinia adalah salah satu dari marga tumbuhan buah dalam suku Guttiferae (Clusiaceae) dengan jumlah jenis yang banyak. Marga tumbuhan ini terkenal dengan nama kelompok manggis-manggisan. Beberapa literatur menyatakan, saat ini di seluruh dunia terdapat sekitar 400 jenis *Garcinia* (Rukmana, R., 2007). Secara umum marga *Garcinia* berupa pohon atau semak, daun selalu berhadapan bersilang, tunggal, bertulang daun menyirip. Pangkal tangkai daun bentuk pelepah. Bunga beraturan berkelamin 1 atau 2. Kelopak daun atau mahkota kerap kali lepas, bervariasi antara 2-7. Benang sari banyak, lepas atau bersatu dengan beberapa macam cara, bentuk sangat berbeda, kadang-kadang semua atau sebagian tidak sempurna. Bakal buah beruang 2 sampai banyak, ruang berbakal biji 1. Kepala putik duduk atau hampir duduk. Buah buni berdinging tebal (Steenis, V. C. G.G. J., 1975).

2.1.2 *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Tanaman *G. Lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. memiliki klasifikasi sebagai berikut: (Jones, S.B., 1987)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Suku	: Clusiaceae
Marga	: <i>Garcinia</i>
Jenis	: <i>Garcinia lateriflora</i> Blume var. <i>javanica</i> Boerl.

Tanaman *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. yang terdapat di Kebun Raya Bogor memiliki tinggi 15 m dan diameter batang 40,11. Daun berwarna hijau, permukaan atas daun lebih hijau dibandingkan permukaan bawah. Ujung daun meruncing Bunga jantan dengan benang sari bebas, kepala sari berbentuk

persegi, kompak, dan memiliki bentuk tajuk segitiga (Sari, R., dan Abdul H., 2000).

2.1.3 Beberapa *Garcinia* yang Telah Diteliti Memiliki Aktivitas Antioksidan

a. *Garcinia lateriflora* Blume

Garcinia lateriflora Blume (tanaman jawura) ini diteliti telah memiliki satu senyawa santon yaitu 2,5 dihidroksi santon yang bersifat toksik (cukup aktif) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Elya, B., 2008).

b. *Garcinia balica* Miq.

Garcinia balica Miq merupakan salah satu jenis *Garcinia* asli Jawa Timur. Hasil penelitian terhadap fraksi ekstrak etil asetat pada batang *G. balica* Miq. asal Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur diperoleh senyawa baru turunan 4-fenilkumarin,5,7-dihidroksi-8-(1,2-dihidroksi-3-metil-butenil-3)4 fenilkumarin berupa kristal berwarna kuning dengan titik leleh 223-224°C. Senyawa tersebut memiliki aktivitas yang tinggi sebagai antioksidan. Penemuan ini adalah yang pertama sekali dari jenis tumbuhan *Garcinia* (Mudjirahmini, D., dan Taslim, E., 2006).

c. *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz.

Penelitian kayu batang *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz. yang dilakukan oleh Sukamat dan Taslim Ersam yang diperoleh dari Yogyakarta dan diidentifikasi oleh Herbarium Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta berhasil diisolasi dua senyawa santon sederhana yaitu 1,3,4,5,8-pentahidroksisanton dan 1,4,5,8- tetrahidroksisanton dari ekstrak etil asetat kayu batang *G. dulcis*. yang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi terhadap radikal bebas DPPH (Sukamat dan Taslim, E., 2006).

d. *Garcinia bancana* Miq.

Garcinia bancana Miq. dikenal juga dengan manggis hutan, Pada penelitian sebelumnya berhasil diisolasi tiga senyawa fenol dari kulit batang *G. bancana* Miq. Yaitu (-)-epikatekin, 1,5-dihidroksi-3,6-dimetoksi-2,7-di-(3-metilbut-2-enil) santon, dan isosantosimol. Selanjutnya dari tiga senyawa fenol

tersebut dilakukan uji aktivitas antioksidan oleh Muharni, Supriyatna, Husein H.B, dan Dachariyanus.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode xantin oksidase (XO) berdasarkan jumlah asam urat yang terbentuk. Hasil pengukuran menunjukkan nilai IC_{50} untuk ketiga senyawa berturut-turut 9,7; >200; dan 8,6 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai IC_{50} ini disimpulkan bahwa isosantosimol dan (-)-epikatekin bersifat aktif antioksidan sedangkan 1,5-dihidroksi-3,6- dimetoksi-2,7-di-(3-metilbut-2-enil)santon bersifat tidak aktif (Muharni, Supriyatna, Husein H.B., dan Dachariyanus, 2009).

e. *Garcinia mangostana* Linn.

Garcinia mangostana Linn. merupakan spesies *Garcinia* yang secara umum lebih dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman manggis. Dari hasil penelitian, diketahui bahwa kulit buah *G. mangostana* Linn yang diperoleh dari Guangdong dimaserasi dengan metanol 70%, kemudian di fraksinasi dengan butanol, fraksinasi butanol dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan silikagel dan sephadex LH-20, lalu diidentifikasi senyawa kimia menggunakan spektrofotometri UV-Vis, spektrofotometri IR dan spektroskopi NMR.

Garcinia ini mengandung tiga senyawa fenol yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu (1,3,6,7-tetrahydroxy-2,8-(3-methyl-2-butenyl)), [1,3,6-trihydroxy-7-methoxy- 2,8-(3-methyl-2-butenyl) xanthone] dan *epicatechin* (Limei Yu, Mouming Zhao, Bao Yang, Qiangzhong Zhao, Yueming Jiang, 2007).

f. *Garcinia kola*

Garcinia kola merupakan tanaman tropis yang secara luas digunakan dalam pengobatan tradisional, khususnya di sub-region Afrika pusat dan barat. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Tebekeme Okoko, ekstrak metanol biji *G. kola* dipisahkan dengan silikagel kromatografi kolom sehingga diperoleh 5 fraksi yaitu ME1-ME5, dari 5 fraksi tersebut diketahui bahwa fraksi ME4 memiliki aktivitas antioksidan paling kuat, hal ini berdasarkan uji aktivitas penghambatan radikal bebas dan uji potensi antioksidan secara in-vitro.

Fraksi ME4 diisolasi kandungan kimianya menggunakan HPLC diperoleh bahwa fraksi ME4 mengandung 4 kandungan kimia yang kemudian di analisis menggunakan MS dan NMR. Keempat kandungan kimia tersebut adalah biflavonoids GB1(3,4,4,5, 5,7,7-heptahydroxy-3,8-biflavanone) and GB2 ((3,4,4,5, 5,5,7,7-hexahydroxy-3,8-biflavanone), *chromanols garcinal* and *garcinoic acid* (Tebekeme, O., 2009).

2.2 Simplisia

Menurut Materia Medika Indonesia, simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan alam yang dikeringkan. Simplisia dibedakan dibedakan menjadi simplisia nabati, hewani, dan pelikan (mineral).

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah berupa simplisia nabati, yaitu simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman tertentu, atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Nama latin simplisia ditetapkan dengan menyebutkan nama marga (*genus*), atau nama jenis (*species*), atau petunjuk jenis (*specific epithet*) tanaman asal, diikuti dengan bagian tanaman yang digunakan. Ketentuan ini tidak berlaku untuk simplisia nabati yang diperoleh dari beberapa macam tanaman yang berbeda-beda marganya maupun untuk eksudat tanaman.

Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan, atau kotoran hewan; tidak boleh menyimpang bau dan warnanya; tidak boleh mengandung lendir dan cendawan, atau menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain; tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya. Jika dalam beberapa hal khusus ada sedikit penyimpangan dari beberapa ketentuan mengenai morfologik dan mikroskopik yang tertera dalam Materia Medika Indonesia, sedangkan semua persyaratan lain dipenuhi, maka simplisia yang bersangkutan dapat dianggap memenuhi persyaratan Materia Medika Indonesia (Depkes RI, 1995).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

Terdapat beberapa metode ekstraksi dengan pelarut cair, antara lain cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, serta cara panas yaitu refluks, sokletasi, digesti, infuse, dekok. Berikut adalah penjelasan singkat beberapa metode ekstraksi (Depkes RI, 2002).

2.3.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi atau *macerace* yang berarti mengairi atau melunakkan merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dilakukan dengan cara merendam bahan simplisia yang telah dihaluskan dengan derajat kehalusan yang cocok ke dalam bejana tertutup dengan cairan penyari, kemudian simpan di tempat yang terlindungi dari cahaya langsung selama 5 hari sambil sesekali diaduk (voight, 1995). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2.3.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan

adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Soklet

Soklet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98⁰C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air.

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor-faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut di antaranya adalah selektivitas, kemudahan bekerja, ekonomis, ramah lingkungan, serta keamanan. Saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan etanol atau campuran dari keduanya (Depkes RI, 2000).

Produk yang dihasilkan dari suatu proses ekstraksi disebut ekstrak, yaitu sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan (Depkes RI, 2000).

2.4 Radikal Bebas

2.4.1 Pengertian

Radikal bebas adalah setiap molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif dan dengan mudah menjadi reaksi yang tidak terkontrol, menghasilkan ikatan silang (*cross-link*) pada DNA, protein, lipida atau kerusakan oksidatif pada gugus fungsional yang penting pada biomolekul ini. Perubahan ini akan menyebabkan proses penuaan. Radikal bebas juga berperan dalam patologi dari berbagai penyakit degeneratif yakni kanker, aterosklerosis, rematik, jantung koroner, katarak, dan penyakit degenerasi saraf seperti parkinson.

Tubuh memiliki pertahanan antioksidan dalam bentuk enzim antioksidan (*antioxidant defense*) dan zat antioksidan untuk menetralkan radikal bebas. Akan tetapi, karena perkembangan industri yang pesat, manusia berkontak dengan berbagai sumber radikal bebas yang berasal dari lingkungan dan dari kegiatan fisik yang tinggi sehingga sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh tidak memadai. Ketidakseimbangan antara pengaruh degeneratif dari ROS (*reactive oxygen species*) dengan pertahanan antioksidan disebut *oxidative stress*. Maka dibutuhkan tambahan antioksidan yang cukup karena *oxidative stress* yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan sel dan bahkan kematian (Silalahi, J., 2006).

2.4.2 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas di tubuh manusia berasal dari dua sumber yaitu sumber endogen dan eksogen (Iswari, K., 2011).

a. Sumber endogen

Contoh sumber endogen adalah proses auto-oksidasi, oksidasi enzimatis, dan *respiratory burst*. Proses auto-oksidasi merupakan produk proses metabolisme aerobik. Molekul yang mengalami auto-oksidasi berasal dari katekolamin, hemoglobin, mioglobin, sitokrom C yang tereduksi, dan tiol. Autooksidasi molekul itu menghasilkan reduksi oksigen di radikal dan pembentukan kelompok reaktif oksigen. Superoksida merupakan bentuk awal radikal. Ion ferrous (Fe II) dapat kehilangan elektronnya melalui oksigen untuk membuat superoksida dan Fe III.

Oksidasi enzimatis adalah suatu proses dimana beberapa sistem enzim mampu menghasilkan radikal bebas dalam jumlah bermakna, seperti *xanthine oxidase (activated in ischemiareperfusion)*, *prostaglandin synthase*, *lipoxygenase*, *aldehyde oxidase*, dan *amino acid oxidase*.

Respiratory burst merupakan terminologi yang digunakan untuk menggambarkan proses dimana sel fagositik menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar selama berlangsungnya fagositosis. Sekitar 70 hingga 90% penggunaan oksigen tersebut dapat diperhitungkan dalam produksi superoksida.

b. Sumber Eksogen

Contoh sumber eksogen adalah obat-obatan, radiasi matahari, dan asap rokok.

2.5 Antioksidan

2.5.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektrolit yg dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Prakash, A., 2001).

Khusus untuk melindungi pengaruh radikal bebas, tubuh mempunyai sistem pertahanan yang meliputi enzim dan zat tertentu. Enzim katalase dan glutathion peroksidase berperan mengeluarkan H_2O_2 , superoksida dismutase (SOD) mengeluarkan O_2 dengan mengubahnya menjadi H_2O_2 . Daya punah penangkap radikal bebas (*free radical scavengers*) ini diperkuat oleh antioksidan biologis lain terutama vitamin antioksidan seperti vitamin C, Vitamin E, dan β -Karoten. Akan tetapi, karena perkembangan industri yang pesat, manusia berkontak dengan berbagai sumber radikal bebas yang berasal dari lingkungan dan dari kegiatan fisik yang tinggi sehingga sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh tidak memadai. Ketidakseimbangan antara pengaruh degeneratif dari ROS (*reactive oxygen species*) dengan pertahanan antioksidan disebut *oxidative stress*. Maka dibutuhkan tambahan antioksidan yang cukup karena *oxidative stress* yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan sel dan bahkan kematian (Silalahi, J., 2006).

2.5.2 Jenis Antioksidan

Antioksidan dalam tubuh dibedakan atas 3 kelompok, yaitu (Silalahi, J., 2006).

a. Antioksidan primer

Bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan, misalnya glutathion peroksidase, flavonoid, dan senyawa tiol.

b. Antioksidan sekunder

Berfungsi menangkap radikal bebas dan menghalangi terjadinya reaksi berantai, misalnya vitamin C, vitamin E, dan β -karoten

c. Antioksidan tertier

Bermanfaat untuk memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh radikal bebas, misalnya DNA *repair*enzime.

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Beberapa metode uji aktivitas antioksidan secara *in-vitro* yang telah dilakukan adalah :

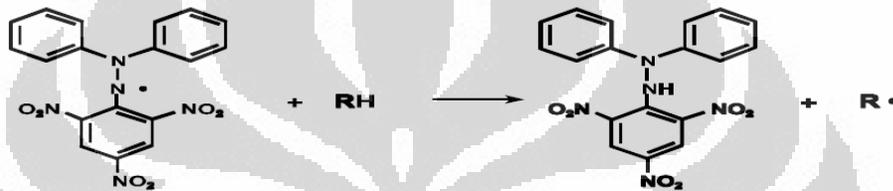
a. Metode FRAP

FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) adalah salah satu tes yang paling cepat dan sangat berguna untuk analisis rutin (Shivaprasad, Mohan, Kharya, 2005). Uji FRAP didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dengan adanya 2,4,6-tri (2-piridil)-s triazine (TPTZ), membentuk biru intensif dari kompleks Fe^{2+} - TPTZ yang diukur pada absorbansi maksimum 593 nm. Reaksi ini tergantung pH (pH optimum 3,6). Penurunan absorbansi sebanding dengan kandungan antioksidan (Chanda, S., Dave, R., 2009).

b. Metode DPPH

Menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Pengukuran antioksidan secara 'Efek peredaman radikal bebas DPPH' merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya uji lain (xantin-xantin oksidase, metode tiosianat, antioksidan total). Hasil pengukuran menunjukkan

kemampuan antioksidan sampel secara umum tidak berdasar jenis radikal yang dihambat. Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji, dimana DPPH akan bereaksi dengan antioksidan tersebut membentuk 1,1-difenil-2- pikrilhidrazin. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak pada λ 517 nm, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Juniarti, Delvi, O., dan Yuhernita, 2009). Berikut reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan (Sharma R., Chaphalkar S.R. and Adsool A.D., 2010) :



Gambar.2.1 Reaksi Penangkapan Hidrogen Oleh DPPH dari Zat Antioksidan

c. Metode xantin oksidase

Ini merupakan salah satu metode untuk mengukur aktivitas antioksidan. Adanya antioksidan diukur dari persentase inhibisi aktivitas xantin oksidase. Enzim xantin oksidase memproduksi asam urat dengan adanya radikal superoksida dari xantin dan jumlah dari asam urat diukur pada 292nm (Shivaprasad, Mohan, Kharya, 2005).

d. Metode *Reducing power*

Metode ini didasarkan pada prinsip peningkatan absorbansi dari reaksi campuran. Peningkatan absorbansi menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan. Pada metode ini senyawa antioksidan metode membentuk kompleks berwarna dengan kalium ferisiania, *trichloro acetic acid* dan besi klorida, yang diukur pada panjang gelombang 700 nm. Meningkatnya absorbansi dari reaksi campuran menunjukkan pengurangan kekuatan sample (Shivaprasad, Mohan, Kharya, 2005).

e. Aktivitas penghambatan radikal superoksida

Aktivitas peredaman radikal superoksida secara in-vitro diukur dengan reduksi dari riboflavin / cahaya / NBT (Nitro biru tetrazolium) reduksi. Reduksi NBT adalah metode yang paling populer. Metode ini didasarkan pada

pembentukan radikal superoksida secara auto-oksidasi dari riboflavin dengan adanya cahaya. Radikal superoksida mereduksi NBT menjadi formazon berwarna biru yang dapat diukur pada 560nm. Kapasitas ekstrak untuk menghambat warna sampai 50% diukur sebagai EC₅₀ (Shivaprasad, Mohan, Kharya, 2005).

f. Aktivitas penghambatan radikal hidroksil

Kapasitas penghambatan radikal hidroksil ekstrak secara langsung berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Metode ini melibatkan pembentukan secara in-vitro dari radikal hidroksil menggunakan Fe³⁺/ ascorbat/ EDTA/ H₂O₂ dengan menggunakan reaksi Fenton. Penghambatan radikal hidroksil ini dengan adanya antioksidan diukur. Dalam salah satu metode radikal hidroksil yang terbentuk secara oksidasi dibuat untuk bereaksi dengan DMSO (*dimethyl sulphoxide*) untuk menghasilkan formaldehida. Formaldehida yang terbentuk menghasilkan warna kuning yang intens dengan reagen Nash (amonium asetat 2M dengan asam asetat 0,05M dan aseton asetil 0,02M dalam aquadest). Intensitas warna kuning yang terbentuk diukur pada 412nm dengan spektrofotometri terhadap blanko negatif. Aktivitas ini dinyatakan sebagai % penghambatan radikal hidroksil (Shivaprasad, Mohan, Kharya, 2005).

g. Aktivitas penghambatan nitrat oksida radikal

Oksida nitrat, karena memiliki elektron yang tidak berpasangan, maka diklasifikasikan sebagai radikal bebas dan menunjukkan reaktivitas yang penting dengan jenis tertentu dari protein dan radikal bebas lainnya. Penghambatan secara in-vitro dari radikal oksida nitrat juga diukur sebagai aktivitas antioksidan. Metode ini didasarkan pada inhibisi dari pembentukan radikal oksida nitrat yang dihasilkan dari natrium nitroprusid dalam dapar garam dan diukur dengan pereaksi Griess. Dengan adanya penghambatan, absorbansi dari kromofor diukur pada 546nm. Aktivitas ini menunjukkan sebagai % reduksi dari oksida nitrat (Shivaprasad, Mohan, Kharya, 2005).

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. Pengukuran serapan dengan

spektrofotometer UV-Vis dapat dilakukan pada panjang gelombang daerah ultraviolet (190 nm – 380 nm) atau daerah cahaya tampak (380 nm – 780 nm).

Pengukuran serapan sampel dapat dilakukan dengan perhitungan Lambert-Beer sebagai berikut:

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = \epsilon \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c \quad (2.1)$$

$\log \frac{I_0}{I_t}$

dimana : A = serapan

a = daya serap

b = tebal lapisan zat yang menyerap sinar (cm)

c = kadar (g/L)

ϵ = absorpsivitas molekuler ($\text{mol} \cdot \text{cm} \cdot \text{L}^{-1}$)

I_0 = Intensitas sinar datang

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

Senyawa yang dapat dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor, yaitu gugus dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Gugus kromofor akan mengabsorpsi radiasi sinar ultraviolet dan cahaya tampak jika diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Gugus auksokrom yaitu gugus yang mempunyai elektron non bonding dan tidak menyerap radiasi UV jauh contohnya -OH, -NH₂, -NO₂, -X.

Beberapa faktor yang mempengaruhi spektrum serapan diantaranya : Jenis pelarut (polar, non polar), pH larutan, Kadar larutan dimana jika konsentrasi tinggi akan terjadi polimerisasi yang menyebabkan γ maksimum berubah sama sekali atau harga $I_0 < I_a$, dan tebal larutan jika digunakan kuvet dengan tebal berbeda akan memberikan spektrum serapan yang berbeda

Jenis spektrofotometer UV-Vis ada dua yaitu *single beam* dan *double beam*. Pada *single beam* celah keluar sinar monokromatis hanya satu, wadah kuvet yang dapat dilalui sinar hanya satu dan setiap perubahan panjang gelombang alat harus dinolkan. Pada *double beam* celah keluar sinar monokromatis ada dua, wadah melalui dua kuvet sekaligus dan cukup satu kali dinolkan dengan cara mengisi kedua kuvet dengan larutan blanko.

Metode spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kuantitatif maupun kualitatif. Analisis kuantitatif dilakukan dengan pembuatan

kurva kalibrasi atau dengan menggunakan rumus Lambert-Beer, sedangkan analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan λ maksimum, membandingkan serapan, daya serap, persen ekstraksi dan membandingkan spektrum serapannya (Harmita, 2006; Harmita *et al.*, 2006).

2.8 Penapisan Fitokimia (Harborne, 1987)

Tujuan utama dari penapisan fitokimia adalah menganalisis tumbuhan untuk mengetahui kandungan bioktif yang berguna untuk pengobatan. Pendekatan secara penapisan fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, antrakinon, flavonoid, glikosida jantung, kumarin, saponin (steroid dan triterpenoid), tanin, polifenol, dan minyak atsiri (Mustarichie, R., Ida, M., Jutti, L., 2011).

a. Alkaloid

Alkaloid adalah basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan berbentuk siklik. Alkaloid terasa pahit, umumnya memiliki bentuk padat, walaupun ada juga yang cair. Alkaloid larut dalam air dan ada yang tidak larut dalam pelarut organik. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan memakai air yang diasamkan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam. Alkaloid dapat dideteksi dengan cara pengendapan menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat.

b. Senyawa fenol dan flavonoid

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik dan mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Aktivitas senyawa fenolik tumbuhan banyak dan sangat beragam, misal lignin untuk membangun sel, dan antosianin sebagai pigmen bunga.

Flavonoid adalah reduktor yang dapat menghambat reaksi oksidasi baik secara enzimatis maupun non enzimatis. Flavonoid bertindak sebagai penampung radikal bebas dan superoksida sehingga dapat melindungi lipid

membran dari kerusakan. Proses ekstraksi senyawa ini dilakukan dengan etanol mendidih untuk menghindari oksidasi enzim. Pendeteksian adanya senyawa ini dapat dilakukan dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 5% dalam air atau etanol yang menimbulkan warna hijau, merah ungu, biru atau hitam kuat.

c. Terpen

Terpen adalah senyawa yang tersusun dari isopren $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ dan memiliki rangka karbon yang dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan isopren ini. Terpenoid terdiri dari beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap dan yang tidak menguap, triterpen, dan sterol.

Secara umum terpen larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan eter dan kloroform. Steroid adalah 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.

d. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Senyawa ini dapat membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air bila bereaksi dengan protein.

Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis terbentuk dari 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 cara pengendapan menggunakan larutan gelatin 10%, campuran natrium klorida-gelatin, besi (III) klorida 3%, dan timbal (II) asetat 25%.

e. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, dapat menimbulkan busa jika dikocok dengan air, dan pada konsentrasi yang rendah dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus. Identifikasi saponin dapat dilakukan dengan mengocok ekstrak bersama air hangat di dalam tabung reaksi

dan akan timbul busa yang dapat bertahan lama, setelah penambahan HCl 2 N busa tidak hilang.

2.9 Kromatografi

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion. Dengan demikian masing-masing zat dapat diidentifikasi atau ditetapkan dengan metode analitik (Depkes RI, 1995).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penyerapan, partisi (pembagian) atau gabungannya. Kromatografi lapis tipis biasanya digunakan untuk pengecekan yang cepat terhadap komposisi campuran, menentukan kondisi percobaan dari kromatografi kolom, mengetahui kesempurnaan suatu reaksi, dan untuk identifikasi obat, ekstrak tanaman, preparat biokimia, serta mendeteksi kontaminan dan pemalsuan (Harmita, 2006).

Kromatografi kolom merupakan metode kromatografi cair yang baik digunakan untuk pemisahan campuran dalam skala besar (lebih dari 1 gram). Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita pada bagian atas kolom penjerap yang berada dalam tabung kaca, tabung logam, atau tabung plastik. Kromatografi kolom terbagi dua jenis yaitu kromatografi kolom lambat dan kromatografi kolom dipercepat (kilat). Pada kromatografi kolom dipercepat, pelarut pengembang didorong dengan cepat (dengan tekanan gas) melalui kolom bergaris tengah besar tetapi pendek yang berisi penjerap basah yang ukuran partikelnya dikendalikan dengan ketat (Gritter, R. J., *et al*, 1985).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

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

3.2 Bahan Uji

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. yang diambil dari Kebun Raya Bogor dan dideterminasi oleh Pusat Konservasi Tumbuhan-Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

3.3 Bahan Kimia

n-heksan, etil asetat, metanol teknis yang telah didestilasi, DPPH (Sigma-Aldrich), metanol p.a (merck), lempeng KLT (E. Merck), silika gel (Merck cat. 1.07734, Jerman), mayer LP, bouchardat LP, dragendorf LP, asam sulfat pekat p.a (merck), asam klorida p.a (merck), serbuk seng (Merck), asam borat, asam oksalat, dietil eter p.a (Merck), gelatin, NaCl, natrium klorida-gelatin, besi (III) klorida 5%, anhidra asetat, kloroform, amoniak.

3.4 Bahan Pemanding

Kuersetin

3.5 Alat

Bejana maserasi, *rotary evaporator* (Buchi R-215, Jerman), penangas air (*water bath*), *laboratory blender*, peralatan kromatografi lapis tipis, peralatan kromatografi kolom, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), kuvet kuarsa, timbangan analitik dan alat-alat gelas.

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Penyiapan Simplisia

Daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor dan dideterminasi oleh Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia disortasi basah, kemudian dicuci dan dibersihkan menggunakan air mengalir. Setelah bersih, dilakukan proses pengeringan yang dilakukan di ruangan menggunakan AC pada suhu 18⁰C selama 10 hari, lalu pengeringan dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 40-50⁰C selama 1 jam. Setelah kering, diserbuk dengan *laboratory blender* untuk memperoleh bentuk serbuk.

3.6.2 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pelarut yang kepolarannya semakin meningkat. Maserasi dimulai dengan pelarut berturut-turut n-heksana, etil asetat, dan metanol.

3.6.2.1 Penyiapan ekstraksi n-heksana daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Sampel yang telah ditimbang diekstraksi secara maserasi selama 18 jam dengan n-heksana hingga simplisia terendam sambil dilakukan pengocokan selama 6 jam. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Maserasi dilakukan tujuh kali sampai filtrat mendekati tidak berwarna. Filtrat dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental yang masih bisa dituang, kemudian sisa pelarut diuapkan di penangas air pada suhu tidak lebih dari 50⁰C sampai mendapatkan ekstrak kental n-heksana daun *G.lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. kemudian ditimbang.

3.6.2.2 Penyiapan ekstrak etil asetat daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Ampas diangin-anginkan agar terbebas dari n-heksana. Ampas kering dimaserasi dengan etil asetat selama 18 jam, sambil dilakukan pengocokan selama 6 jam. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Maserasi dilakukan tujuh kali sampai filtrat mendekati tidak berwarna. Filtrat dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental yang masih bisa dituang, kemudian sisa pelarut di uapkan di penangas air pada suhu tidak

lebih dari 50⁰C sampai mendapatkan ekstrak kental etil asetat daun *G.lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. kemudian ditimbang.

3.6.2.3 Penyiapan ekstrak metanol daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Ampas diangin-anginkan agar terbebas dari etil asetat. Ampas kering dimaserasi dengan metanol selama 18 jam, sambil dilakukan pengocokan selama 6 jam. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Maserasi dilakukan sampai filtrat mendekati tidak berwarna. Filtrat dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental yang masih bisa dituang, kemudian sisa pelarut di uapkan di penangas air pada suhu tidak lebih dari 50⁰C sampai mendapatkan ekstrak kental metanol daun *G.lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. kemudian ditimbang.

3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Masing-masing ekstrak dari daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. (ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat, ekstrak metanol) diuji aktivitas antioksidan dengan metode Blois dengan beberapa modifikasi. Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi. Pada tahap awal dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak. Ekstrak yang akan diuji dilarutkan dalam pelarut yang digunakan pada ekstraksi sebelumnya, lalu ditotolkan pada lempeng silika gel F 254 dengan menggunakan pipet kapiler. Setelah totolan kering, lempeng silika disemprot dengan larutan DPPH, lempeng dibiarkan beberapa menit kemudian amati warna yang timbul pada lempeng. Terbentuknya warna kuning atau putih dengan latar belakang ungu menunjukkan adanya komponen aktif yang menghambat radikal bebas DPPH.

3.6.3.1 Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah 5,0 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL metanol p.a hingga didapatkan konsentrasi 100 ppm.

3.6.3.2 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. Kemudian diinkubasi pada suhu 37^o C selama 30 menit.

3.6.3.3 Optimasi panjang gelombang DPPH

Larutan DPPH yang telah dibuat dengan konsentrasi 100 ppm ditentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 400 nm hingga 700 nm dan ditentukan panjang gelombang optimumnya.

3.6.3.4 Persiapan larutan uji

a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 1000 ppm)

Sejumlah 10 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a hingga homogen.

b. Pembuatan larutan seri

Ekstrak n-heksan dibuat dengan konsentrasi 50, 100, 150, 170, 200, dan 250 ppm. Masing-masing dipipet 0,5; 0,1; 1,5; 1,7; 2; dan 2,5 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

Ekstrak etil asetat dibuat dengan konsentrasi 5, 10, 15, 25, 30, 35, 40 dan 45 ppm. Masing-masing dipipet 0,05; 0,1; 0,15; 0,25; 0,3 dan 0,35, 0,4 dan 0,45 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

Ekstrak metanol dibuat dengan konsentrasi 2, 5, 10, 12,5, 15, 25, dan 30 ppm. Masing-masing dipipet 0,02; 0,05; 0,1; 0,125; 0,15; 0,25 dan 0,3 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

3.6.3.5 Pembuatan larutan kuersetin sebagai pembanding

a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 1000 ppm)

Sejumlah 10 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a hingga homogen.

b. Pembuatan larutan seri (konsentrasi 1, 2, 4, 6, dan 10 ppm)

Dipipet masing-masing 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; dan 0,1 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL.

5.6.3.6. Pengujian aktivitas antioksidan.

Dari masing-masing larutan uji dipipet 1,0 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1,0 mL DPPH 100 ppm, kemudian ditambahkan 2,0 mL metanol dikocok hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

3.6.3.7 Penghitungan nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Setelah didapatkan presentasi inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah presentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$.

3.6.4 Penapisan Fitokimia Fraksi Ekstrak yang Aktif

3.6.4.1 Identifikasi dengan pereaksi kimia

a. Identifikasi alkaloid (Depkes RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak kental dilarutkan dengan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, lalu didinginkan. Selanjutnya disaring dan filtrat digunakan sebagai larutan percobaan yang akan digunakan dalam pengujian berikut :

Sejumlah 1 ml filtrat dipindahkan pada kaca arloji, ditambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan coklat hitam.

Sejumlah 1 ml filtrat dipindahkan pada kaca arloji, ditambahkan 2 tetes Mayer LP. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih atau kuning yang larut dalam metanol P.

Sejumlah 1 ml filtrat dipindahkan pada kaca arloji, ditambahkan 2 tetes Dragendorff LP. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga coklat.

b. Identifikasi glikosida (Depkes RI, 1995)

Beberapa mg ekstrak kental ditambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, kocok, didiamkan selama 5 menit dan disaring. Sari filtrat tiga kali, tiap kali dengan 20 ml campuran (3:1) kloroform P dan isopropanol. Pada kumpulan sari ditambahkan natrium sulfat anhidrat, disaring, dan diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°. Larutkan sisa dengan 2 ml metanol. Larutan ini digunakan sebagai larutan percobaan.

Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya ditambahkan 5 ml asam asetat anhidrat P dan 10 tetes asam sulfat P. Hasil positif ditandai oleh terbentuknya warna biru atau hijau.

Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dengan 2 mL air dan 5 tetes Molisch LP. Kemudian ditambahkan 2 mL asam sulfat P dengan hati-hati. Hasil positif ditandai oleh terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan (Reaksi Molisch).

c. Identifikasi saponin (Depkes RI, 1995)

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

d. Identifikasi flavonoid (Depkes RI, 1995)

Ekstrak kental dilarutkan dalam 5 ml etanol 95% kemudian dilakukan percobaan sebagai berikut:

Sejumlah 2 ml larutan ekstrak ditambahkan 0,5 gram serbuk seng, kemudian ditambahkan 2 ml HCl 2N, didiamkan 1 menit. Setelah itu, ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Kocok perlahan, kemudian didiamkan 2-5 menit. Hasil positif ditandai oleh terbentuknya warna merah intensif.

Sejumlah 2 ml larutan ekstrak ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium. Kemudian ditambahkan 10 tetes HCl pekat. dikocok perlahan. Terbentuk warna merah jingga hingga merah ungu yang menunjukkan positif adanya flavonoid. Jika terjadi warna kuning jingga, menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron.

Ekstrak kental dilarutkan dengan aseton. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk asam borat dan asam oksalat, dipanaskan hati-hati. Setelah itu, 10 ml eter ditambahkan kemudian diamati dengan sinar ultraviolet 366 nm. Larutan akan berfluoresensi kuning intensif yang menunjukkan positif flavonoid.

e. Identifikasi tanin (Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak kental dilarutkan dalam 5 mL air suling panas dan diaduk. Setelah dingin disentrifugasi dan bagian cairan didekantisir dan diberi larutan NaCl 10% kemudian disaring. Filtrat ini digunakan sebagai larutan percobaan dan dikerjakan sebagai berikut :

Sejumlah 1 mL larutan percobaan ditambahkan 3 mL larutan gelatin 10% dan diperhatikan adanya endapan. Sejumlah 1 mL larutan percobaan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 3% dan diperhatikan terjadinya perubahan warna menjadi hijau violet. Sejumlah 1 mL larutan percobaan ditambahkan 3 mL larutan NaCl-gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan NaCl 10%) dan diperhatikan adanya endapan.

f. Identifikasi kuinon /antrakuinon (Depkes RI, 1995)

200 mg ekstrak dilarutkan dengan 5 mL asam sulfat 2 N, dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Setelah itu, ditambahkan 10 mL benzene P, kocok, dan didiamkan. Lapisan benzene dipisahkan, saring, filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Kocok lapisan benzene dengan 1 mL sampai 2 mL natrium hidroksida 2 N lalu didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzen tidak berwarna.

g. Identifikasi terpen (Farnsworth, 1966)

Beberapa mg ekstrak kental ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (2:1). Hasil positif ditandai oleh terbentuknya merah-hijau atau violet-biru.

3.6.4.2 Identifikasi secara kromatografi lapis tipis

Frakasi ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling aktif diidentifikasi secara kromatografi lapis tipis untuk menegaskan adanya senyawa kimia yaitu flavonoid yang dianggap berkhasiat sebagai antioksidan. Pengujian secara KLT dilakukan menggunakan lempeng silika gel F 254 dengan eluen n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) dan pereaksi penampak noda yaitu AlCl_3 5% yang

diamati menggunakan sinar ultraviolet 366 nm. Hasil identifikasi secara KLT diperoleh bercak yang kemudian dihitung harga Rf dengan rumus :

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal}} \quad (3.2)$$

3.6.5 Pemisahan Ekstrak Metanol Daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. secara Kromatografi Kolom Dipercepat

Ekstrak yang menunjukkan aktivitas antioksidan paling aktif berdasarkan uji DPPH yaitu ekstrak metanol selanjutnya dipisahkan secara kromatografi kolom dipercepat. Sebanyak 10 gram ekstrak metanol daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dilarutkan dengan pelarut n-heksan sesedikit mungkin lalu ditambah sedikit silika gel sampai terbentuk sebuk kering, kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom dipercepat menggunakan kolom yang memiliki ukuran dengan panjang 16,6 cm dan diameter 6,5 cm, fase diam yang digunakan silika gel 60 sejumlah 110 gram. Silika gel 60 tersebut dituangkan ke dalam kolom lalu dipadatkan dengan bantuan vakum, lalu permukaan silikagel diratakan, setelah padat silika gel diekuilibrasikan dengan pelarut n-heksan sebanyak 200 ml selanjutnya dialiri dengan fase gerak yang digunakan.

Sebagai fase gerak digunakan pelarut dengan tingkat kepolaran semakin meningkat, yaitu perbandingan n-heksan-etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90, 5:95, 0:100) dan perbandingan etil asetat-metanol (95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90, 5:95, 0:100). Tiap perbandingan pelarut yang digunakan sejumlah 200ml, setiap eluat ditampung dan diuapkan. Fraksi yang diperoleh sebanyak 41 fraksi, lalu setiap fraksi dilakukan KLT dengan eluen heksan-etil asetat (7:3) dan butanol-asam asetat-air (4:1:5). Fraksi-fraksi yang menunjukkan pola kromatogram yang sama disatukan, sehingga menghasilkan 10 fraksi. Lalu fraksi gabungan tersebut dilakukan uji aktivitas antioksidan sehingga didapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi. Selanjutnya fraksi yang paling aktif dilakukan penapisan fitokimia.

3.6.6 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol

Uji aktivitas antioksidan terhadap fraksi hasil fraksinasi ekstrak metanol dilakukan dengan prosedur yang sama pada uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dimana dilakukan uji kualitatif aktivitas antioksidan sebagai uji pendahuluan, untuk fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan dilanjutkan dengan Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menurut cara Blois menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm. Masing-masing fraksi ditimbang 10 mg dan dimasukkan dimasukkan kedalam labu takar 10,0 ml dan ditambahkan dengan metanol hingga garis batas labu takar sehingga didapat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk tersebut diambil sebanyak 0,02; 0,05; 0,1; 0,15 dan 0,2 ml dengan menggunakan pipet mikro lalu masing-masing dimasukkan kedalam labu takar 10,0 ml , selanjutnya ditambahkan metanol hingga batas sehingga didapat larutan uji dengan konsentrasi 2, 5, 10, 15, dan 20 ppm. Dari masing-masing larutan dengan berbagai konsentrasi tersebut, diambil 1,0 ml larutan uji, lalu ditambahkan 1,0 ml. larutan DPPH 100 ppm dan metanol 2,0 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex, lalu diinkubasi selama 30 menit, pada temperatur 37⁰C. Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan dihitung nilai IC₅₀. Sebagai standar digunakan kuersetin.

3.6.7 Penapisan Fitokimia Fraksi Teraktif Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol

Identifikasi kandungan kima terhadap fraksi teraktif hasil fraksinasi ekstrak metanol secara kromatografi kolom dipercepat dilakukan dengan prosedur yang sama pada identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak yaitu menggunakan pereaksi kimia dan kromatografi lapis tipis.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan Bahan

Daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. yang digunakan diperoleh dari Kebun Raya Bogor dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan dideterminasi oleh Pusat Konservasi Tumbuhan-Kebun Raya Bogor Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan benar merupakan Daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. yang bisa dilihat pada lampiran 3. Simplisia daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. disortasi basah tujuannya untuk memisahkan dari bagian tanaman yang tidak diinginkan, kemudian dicuci dan dibersihkan dari kotoran, debu dan tanah menggunakan air mengalir. Selanjutnya dikeringkan didalam ruangan yang dilengkapi dengan AC pada suhu 18⁰C selama 10 hari. Pengeringan dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 40-50⁰C selama 1 jam, hal ini untuk membantu agar kekeringan tanaman lebih merata dan mencegah tumbuhnya jamur. Setelah kering, diserbuk dengan *laboratory blender* untuk memperoleh bentuk serbuk. Nilai susut pengeringan diperoleh dengan rumus :

$$\text{Susut Pengeringan} = \frac{\text{Bobot sebelum dikeringkan} - \text{Bobot sesudah dikeringkan}}{\text{Bobot sebelum dikeringkan}} \times 100\%$$
(4.1)

Hasil susut pengeringan yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.1

4.2. Ekstraksi Simplisia

Sejumlah 1,5 kg serbuk simplisia daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. diekstraksi secara maserasi, dipilih karena merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana (voight, 1995) selain itu, untuk menghindari kerusakan kandungan kimia tanaman yang tidak tahan pemanasan. Maserasi dilakukan secara bertingkat menggunakan pelarut dengan kepolaran yang semakin meningkat yaitu berturut-turut n-heksan, etil asetat dan metanol untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya dan agar terjadi proses ekstraksi yang optimal. Proses ekstraksi diulangi kembali hingga

tujuh kali agar jumlah senyawa yang tersari dapat lebih optimal dan seluruh senyawa dapat diekstraksi.

Ekstraksi dilakukan selama 18 jam yang dimulai dengan pelarut n-heksana hingga simplisia terendam, sambil dilakukan pengocokan selama 6 jam pertama. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Maserasi dilakukan tujuh kali sampai filtrat mendekati tidak berwarna atau sampai diperkirakan kandungan kimianya terekstraksi sempurna. Ampas yang diperoleh di maserasi kembali menggunakan pelarut berturut-turut etil asetat dan metanol.

Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 50°C untuk menghindari kerusakan senyawa kimia. Penguapan dilakukan hingga ekstrak menjadi kental dan masih dapat dituang,. Kemudian dilanjutkan dengan diuapkan diatas penangas air pada suhu tidak lebih dari 50°C sampai terbentuk ekstrak dengan kekentalan maksimal. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang kemudian nilai % rendemen dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \quad (4.2)$$

Bobot ekstrak kental serta nilai % rendemen dapat dilihat pada Tabel 4.2. Ekstrak kental tersebut kemudian digunakan dalam pengujian selanjutnya.

4.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Masing-masing ekstrak kental dari daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. (ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat, ekstrak metanol) diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menurut Blois dengan beberapa modifikasi. Metode ini dipilih karena paling umum digunakan secara *in vitro*, selain itu metode DPPH ini merupakan metode pengukuran antioksidan yang sensitiv, sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen (Ozcelik, Lee, & Min, 2003). Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

Pada tahap awal dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak secara kromatografi lapis tipis. Ekstrak yang akan diuji dilarutkan dalam pelarut yang

digunakan pada ekstraksi sebelumnya, lalu ditotolkan pada lempeng silika gel F 254 dengan menggunakan pipet kapiler. Setelah totolan kering, lempeng silika disemprot dengan larutan DPPH, lempeng dibiarkan beberapa menit kemudian amati warna yang timbul pada lempeng. Terbentuknya warna kuning atau putih dengan latar belakang ungu menunjukkan adanya komponen aktif yang menghambat radikal bebas DPPH. Dari hasil uji pendahuluan diperoleh bahwa semua ekstrak memiliki aktivitas antioksidan. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.3.

Selanjutnya, dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji, dimana DPPH akan bereaksi dengan antioksidan tersebut membentuk 1,1-difenil-2-pikril hidrazin. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak pada λ 517 nm, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Juniarti, Delvi, O., dan Yuhernita, 2009).

Masing-masing Ekstrak daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk tersebut tiap ekstrak dilakukan pengenceran dengan konsentrasi yang berbeda-beda agar tercapai serapan yang berada pada range antara 0,2-0,8. Untuk ekstrak n-heksan dibuat dengan konsentrasi 50, 100, 150, 170, 200 dan 250 ppm. Ekstrak etil asetat dibuat dengan konsentrasi 5, 10, 15, 25, 30, 35, 40, dan 45 ppm. Sedangkan Ekstrak metanol dibuat dengan konsentrasi 2, 5, 10, 12,5, 15, 25, dan 30 ppm. Dari masing-masing larutan uji dengan berbagai konsentrasi tersebut, diambil 1,0 ml, lalu ditambahkan 1,0 ml larutan DPPH 100 ppm dan metanol 2,0 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex, lalu diinkubasi selama 30 menit, pada temperatur 37°C. Hal ini dilakukan untuk mengoptimalkan aktivitas DPPH agar terjadi reaksi antara DPPH dengan sampel yang di uji (Hatano, Kagawa, Yasuhara, dan Okuda, 1988). Setelah inkubasi, kemudian dilakukan pengukuran serapan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya yaitu 517 nm. Semakin besar konsentrasi sampel maka semakin banyak elektron yang didonorkan untuk meredam radikal bebas dalam hal ini DPPH, sehingga serapan

yang diberikan pun semakin menurun tergantung dengan jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour, Ebrahimzadeh, Fazel, dan Mohammad, 2009).

Hasil serapan dan % inhibisi uji aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.4. Dari hasil pengukuran diperoleh serapan yang kemudian digunakan untuk perhitungan nilai IC_{50} . Sebagai pembanding digunakan standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm.

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel. Bahan uji dikatakan aktif bila IC_{50} kurang dari 200 ppm untuk bahan uji berupa ekstrak dan kurang dari 100 ppm untuk bahan uji berupa isolat.

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa semua ekstrak baik metanol, etil asetat, dan n-heksan dari simplisia daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 6,1767 ppm, 10,5881 ppm dan 61,9996 ppm. Ekstrak etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibanding dengan ekstrak n-heksan kemungkinan disebabkan karena ekstrak etil asetat dan metanol mengandung senyawa turunan fenol yang memiliki kemampuan meredam radikal bebas. Ekstrak metanol memiliki nilai IC_{50} paling kecil hal ini berarti ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan paling kuat, sehingga terhadap ekstrak metanol tersebut dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom dipercepat. Data hasil nilai IC_{50} ekstrak daun *G. lateriflora* var. *javanica* Boerl. selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.6.

4.4. Penapisan fitokimia ekstrak daun *G. Lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Tujuan utama dari penapisan fitokimia adalah menganalisis tumbuhan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang berguna untuk pengobatan. Hasil identifikasi tiap ekstrak tanaman menggunakan pereaksi kimia memberikan hasil yang berbeda-beda sesuai dengan kepolaran pelarut yang digunakan.

Hasil uji identifikasi terpenoid/sterol, ekstrak n-heksan dan etil asetat menunjukkan reaksi positif terhadap penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat berupa pembentukan warna hijau kehitaman.

Hasil uji identifikasi antrakuinon, dilakukan hidrolisis terlebih dahulu dengan menggunakan asam sulfat yang disertai panas untuk memutus ikatan antara aglikon (antrakuinon) dan glikon (gula). Ekstrak metanol memberikan hasil positif setelah ditambah benzen berupa warna kuning pada lapisan benzen yang kemudian dengan penambahan NaOH pada lapisan benzen tersebut, terbentuk warna merah pada lapisan air dan tidak berwarna pada lapisan benzen.

Identifikasi alkaloid, dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat yang terlebih dahulu ekstrak dilarutkan dalam asam klorida dan air suling agar alkaloid yang bersifat basa dapat berikatan dengan asam membentuk garam yang larut dalam air suling (Sirait, 2007). Ekstrak yang positif terhadap alkaloid yaitu ekstrak etil asetat dan metanol.

Pengujian flavonoid dilakukan dengan menggunakan serbuk magnesium dan zink, yang menunjukkan hasil positif ekstrak etil asetat dan metanol yaitu terbentuknya warna merah intensif dengan penambahan serbuk zink dan asam klorida pekat dan warna merah jingga terhadap serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Selain itu, untuk lebih memastikan dilakukan juga identifikasi secara KLT yaitu menggunakan lempeng KLT dengan fase diam silikagel F₂₅₄ dan fase gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) yang disemprot dengan pereaksi aluminium (III) klorida 5% dan diamati fluoresensinya, diperoleh hasil yaitu dengan jarak tempuh fase gerak 6 cm terlihat 7 bercak dengan warna dan nilai R_f yang berbeda. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.9. Hasil positif flavonoid ditunjukkan berupa bercak yang berfluoresensi hijau kekuningan yang diamati dengan sinar ultraviolet 366 nm (Harborne, 1987).

Hasil uji identifikasi saponin, hanya ekstrak metanol yang menunjukkan hasil positif dengan pengocokkan dalam air panas yaitu terbentuk busa yang berukuran 1,5 cm yang tidak menghing selama tidak kurang 10 menit dan dengan ditetesi HCl 2N busanya nya tidak hilang.

Hasil uji identifikasi tanin, ekstrak metanol dan etil asetat menunjukkan reaksi positif mengandung tanin yang dengan pereaksi FeCl₃ yaitu terbentuk

warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa fenol dan kemungkinan salah satunya adalah tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol. Jika direaksikan dengan larutan gelatin 10% dan larutan gelatin-NaCl menimbulkan endapan putih yang terbentuk karena tanin bereaksi dengan protein yang membentuk kopolimer yang tidak larut air (Harborne, 1987).

Hasil uji identifikasi glikosida menunjukkan ekstrak etil asetat dan metanol memberikan hasil yang positif terhadap pereaksi Molisch berupa pembentukan cincin ungu diantara batas cairan. Hasil Identifikasi masing-masing ekstrak selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.8.

4.5. Pemisahan Ekstrak Metanol Daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. secara Kromatografi Kolom Dipercepat

Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat yaitu ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 6,1767 ppm dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom dipercepat.

Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dipercepat terhadap 10 gram ekstrak metanol yang dilarutkan dengan pelarut n-heksan lalu ditambahkan sedikit silikagel sampai terbentuk serbuk kering. Fase diamnya menggunakan serbuk silika gel 60 H, dan fase geraknya berupa pelarut dengan tingkat kepolaran semakin meningkat yaitu perbandingan n-heksan-etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90, 5:95, 0:100) dan perbandingan etil asetat-metanol (95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90, 5:95, 0:100). Fraksi yang diperoleh sebanyak 41 fraksi. Dari semua fraksi tersebut dilakukan KLT dengan eluen heksan-etil asetat (7:3) dan etil asetat-metanol (4:6). Fraksi-fraksi yang menunjukkan pola kromatogram yang sama disatukan dan menghasilkan 10 fraksi. Fraksi 1-3 digabung menjadi fraksi A; Fraksi 4-6 digabung menjadi fraksi B; Fraksi 7-17 digabung menjadi fraksi C; Fraksi 18-21 digabung menjadi fraksi D; Fraksi 22-25 digabung menjadi fraksi E; Fraksi 26-27 digabung menjadi fraksi F; Fraksi 28 menjadi fraksi G; Fraksi 29-34 digabung menjadi fraksi H; Fraksi 35-39 digabung menjadi fraksi I; Fraksi 40-41 digabung menjadi fraksi J.

4.6 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi-Fraksi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol

Masing-masing fraksi dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH untuk mengetahui fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, yang dilakukan dengan prosedur yang sama dengan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak. Terlebih dahulu masing-masing fraksi hasil fraksinasi dilakukan uji kualitatif aktivitas antioksidan untuk mengetahui fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan. Dari hasil percobaan diperoleh bahwa fraksi B-J memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan untuk fraksi A tidak dapat dilakukan pengujian karena hasil fraksinya terlampaui sedikit. Selanjutnya fraksi B-J dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Masing-masing fraksi dibuat dengan konsentrasi 2, 5, 10, 15, dan 20 ppm, yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm.

Dari percobaan diperoleh hasil bahwa semua fraksi memiliki aktivitas antioksidan dan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat adalah fraksi E dengan nilai IC_{50} yaitu 4,8027 ppm. Hasil IC_{50} masing-masing fraksi dapat dilihat selengkapnya pada Tabel 4.7. Nilai IC_{50} fraksi E lebih kecil bila dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak metanol yaitu 6,1767 ppm. Hal ini mungkin disebabkan karena pada fraksi E terdapat senyawa yang sedikit lebih murni dibandingkan dengan ekstrak metanol karena pada proses pemisahan dengan kromatografi kolom dipercepat pelarut yang digunakan mampu menarik senyawa-senyawa bersifat antioksidan seperti senyawa golongan fenol. Bila fraksi E dibandingkan dengan standar kuersetin yang memiliki nilai IC_{50} 1,6136, fraksi E memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil karena kuersetin adalah zat yang sudah murni dibandingkan fraksi yang didapat dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

4.7 Penapisan Fitokimia Fraksi Teraktif (Fraksi E)

Fraksi teraktif hasil pemisahan ekstrak metanol secara kromatografi kolom dipercepat yaitu fraksi E dilakukan penapisan fitokimia dengan menggunakan cara yang sama seperti pada penapisan fitokimia terhadap ekstrak, yaitu dengan pereaksi kimia dan kromatografi lapis tipis. Dari hasil pengujian dengan pereaksi kimia diperoleh bahwa fraksi E mengandung senyawa flavonoid, antarkuinon, saponin, glikosida, dan tanin, hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Selanjutnya untuk penegasan terhadap senyawa kimia yang diduga berkhasiat sebagai antioksidan yaitu flavonoid, dilakukan identifikasi secara KLT menggunakan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak n-butanol-asam asetat-air (4:5:1). Hasil Uji yaitu dengan jarak tempuh fase gerak 6 cm menghasilkan 5 bercak dengan warna dan nilai R_f yang berbeda setelah disemprot dengan AlCl₃ 5% dan dilihat pada sinar UV 366 nm. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 4.5. dan Tabel 4.10.

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak simplisia daun *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dapat disimpulkan sebagai berikut :

- a. Masing-masing ekstrak memiliki aktivitas antioksidan mulai dari yang tertinggi yaitu Ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksan dengan nilai IC_{50} masing-masing 6,1767 ppm, 10,5881 ppm dan 61,9996 ppm. Hasil identifikasi kimia diperoleh ekstrak n-heksan mengandung senyawa kimia terpen, untuk etil asetat mengandung senyawa kimia alkaloid, terpen, tanin, flavonoid dan glikosida, sedangkan metanol mengandung senyawa kimia alkaloid, tanin, flavonoid, antrakinon, saponin, dan glikosida.
- b. Hasil fraksinasi ekstrak metanol diperoleh fraksi E sebagai fraksi yang paling aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 4,8027 ppm dan mengandung senyawa kimia flavonoid, antrakuinon, saponin, glikosida, dan tanin.

5.2. Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai pemurnian terhadap isolasi senyawa murni dari ekstrak daun tanaman *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dan dilakukan identifikasi serta uji aktivitas antioksidan dari senyawa isolat.

DAFTAR REFERENSI

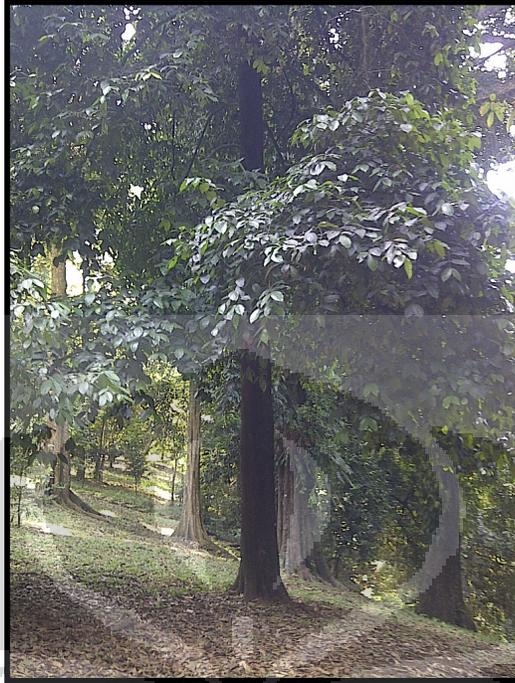
- Elya, B. (2008). Aktivitas Biologi Xanton dari *Garcinia lateriflora* Bl. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, ISSN 1412-2855 vol.6, Januari 2009.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. (1997). *Kinetics and Mechanism of Antioxidant Activity Using the DPPH Free Radical Method*. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*, 30 : 609-615.
- Chanda, S., Dave, R. (2009). In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overvie. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 3(13) pp. 981-996 December, 2009.
- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., dan Mohammad, N.S. (2009). *Antioxidant Activity of Methanol Extract of Ferula Assafoetida and Its Essential Oil Composition*, *Grasas Aceites*, 60(4), 405-412.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. (2000). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of plants. *Jurnal of Pharmaceutical Sciences*, 55, 245-265.
- Geldre, E.V., *et al.* (1997). *State of Art of The Production of Antimalarial Compound Artemisinin in Plants*. *Planta Moleculer Biology* 33:199-209.
- Gritter, R., Bobbit, J., Schwarting, A. (1985). *Pengantar Kromatografi*. Terbitan Kedua. Terj dari Introduction to chromatography oleh Padmawinata K. ITB Bandung.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia*. Ter. Dari Phytochemical Methods oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita. (2006). *Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

- Harmita, *et al.* (2006). *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T.T., and Okuda, F. (1988). *Two New Flavonoids and Other Constituents in Licorice Roots : Their Relative Astringency and Radical Scavenging Effect*. *Chem. Pharm. Bull.* 36, 2090-2097.
- Hernani dan Monoraharjo. (2005). *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Swadaya.
- Holistic Health Solution. (2011). *Khasiat Fantastis Kulit Manggis*. Jakarta : PT. Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Iswari, K. (2011). *Kulit Manggis Berkhasiat Tinggi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- Juniarti, Delvi,O., dan Yuhernita. (April, 2009). *Kandungan Senyawa kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl) Dari Ekstrak Daun Saga (Abrus precatorius L)*. *Makara, Sains*, Vol. 13, No. 1: 50-54.
- Jones, S.B. (1987). *Plant Systematics Second Edition*. Migraw-Hill Book Company, Singapore, 2 : 477-478
- Limei Yu, Mouming Zhao, Bao Yang, Qiangzhong Zhao, Yueming Jiang. (2007). *Phenolics from hull of Garcinia mangostana Fruit and Their Antioxidant Activities*. *Food Chemistry* 104 176–181.
- Mudjirahmini, D., dan Taslim, E. (2006). *4-Fenilkumarin pada Fraksi Polar Ekstrak Etil Asetat dari Batang Garcinia Balica Miq*. *Seminar Nasional Kimia VIII Surabaya*, 8 Agustus 2006.
- Muharni, S., Husein, H.B., dan Dachariyanus. (2009). *Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenol dari Manggis Hutan (Garcinia bancana Miq.)*. *Jurnal Penelitian Sains* Volume 12 Nomer 3(C) 12307.
- Mustarichie, R., Idan, M., dan Jutti, L. (2011). *Metode Penelitian Tanaman Obat*. Bandung : Widya Padjadjaran.

- Ozcelik, O., Lee, J.H., & Min, D.B. (2003). Effects of light, oxygen and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68, 487–490.
- Prakash, A. (2001). *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories : Analithycal Progres , Vol 19 No : 2. 1 – 4.
- Rukmana, R. (2007). *Bibit Manggis*. Yogyakarta : Kanisius.
- Sari, R., dan Abdul, H. (2000). *Garcinia (Clusiaceae) di Kebun Raya Bogor : Fisiognomi, Keragaman dan Potensi*. Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa. Kebun Raya Bogor.
- Shivaprasad, H.N., Mohan, S., Kharya, M.D. (2005). *In-vitro Models for Antioxidant Activity Evaluation*. A Review. <http://www.pharmainfo.net>.
- Silalahi, J. (2006). *Makanan Fungsional*. Yogyakarta : Kanisius.
- Sirait, M. (2007). *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung : ITB
- Steenis, V. C. G.G. J. (1975). *Flora*. Diterjemahkan oleh Moeso Surjowinoto, *et al.* Jakarta : PT. Pradnya Paramita.
- Sukamat dan Taslim, E. (2006). *Dua Senyawa Santon Dari Kayu Batang Mundu Garcinia Dulcis (Roxb.) Kurz. Sebagai Antioksidan*. Seminar Nasional Kimia VIII.
- Takashi, Miyake and Takayumi, S. (1997). Antioxidant Activities of Natural Compound Found in Plants. *J. Agric. Food. Chem.* 45.1819-1822.
- Tebekeme, O. (2009). In Vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Garcinia kola Seeds . *Food and Chemical Toxicology* 47:2620–2623.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi ke-5*. Yogyakarta : UGM.



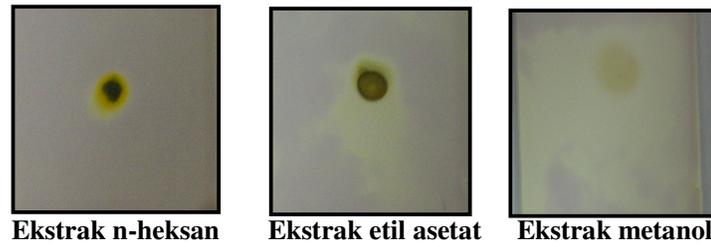
GAMBAR



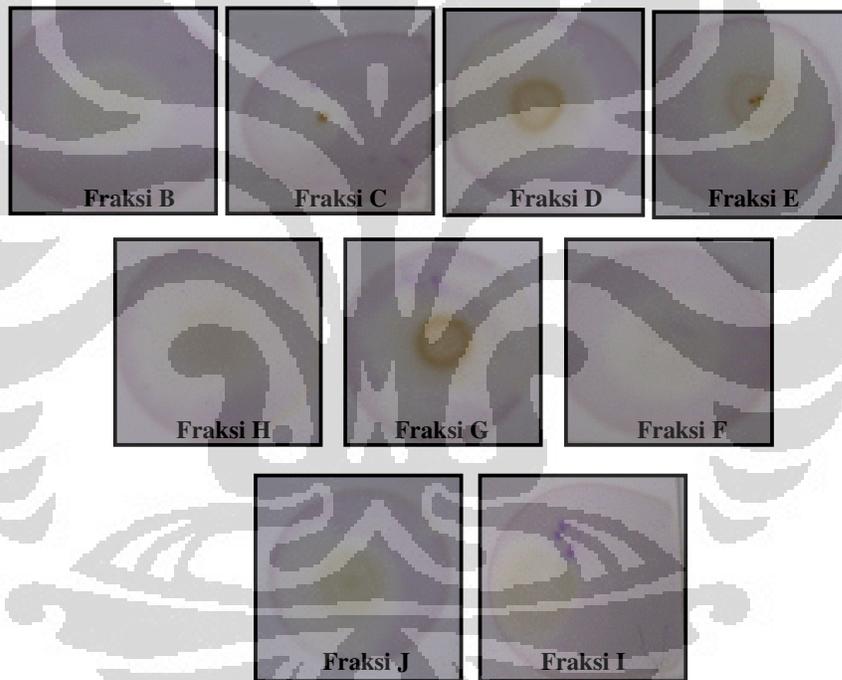
Gambar 4.1. Tanaman *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.



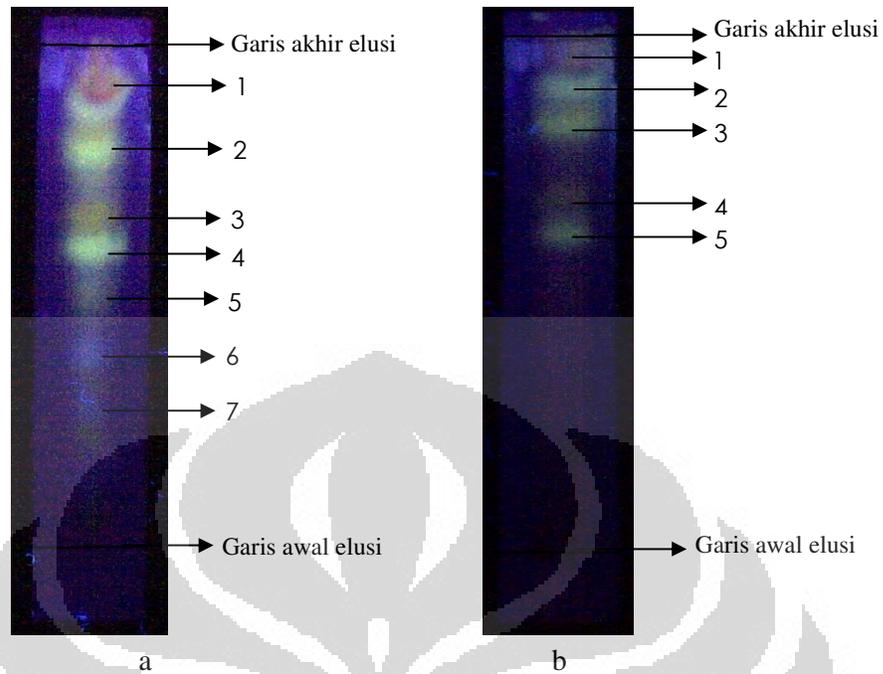
Gambar 4.2. Daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.



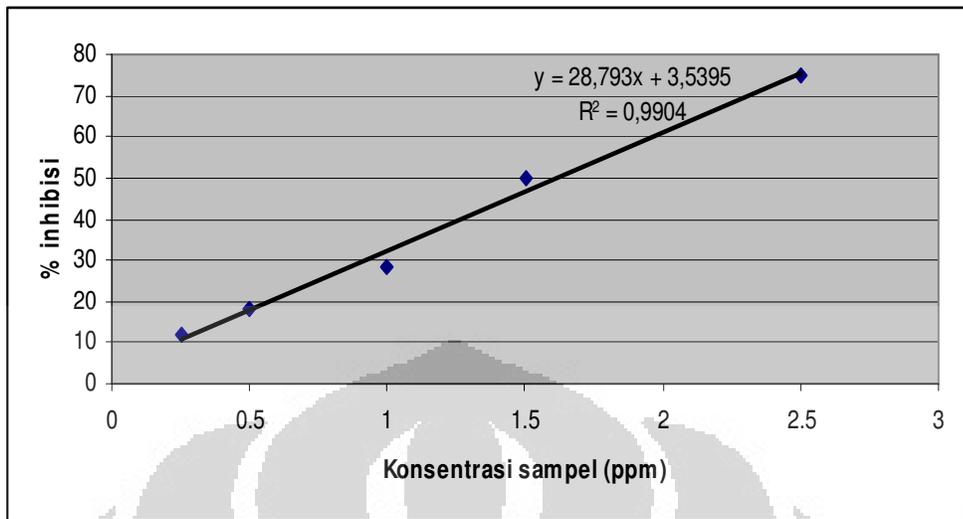
Gambar 4.3. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan ekstrak daun *Garcinia lateriflora* var. *javanica* Boerl.



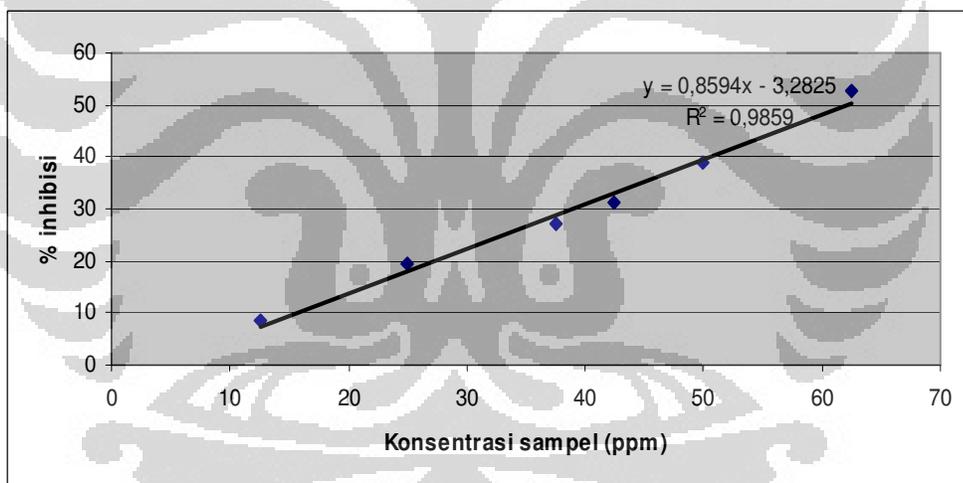
Gambar 4.4. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan fraksi-fraksi hasil fraksinasi ekstrak metanol



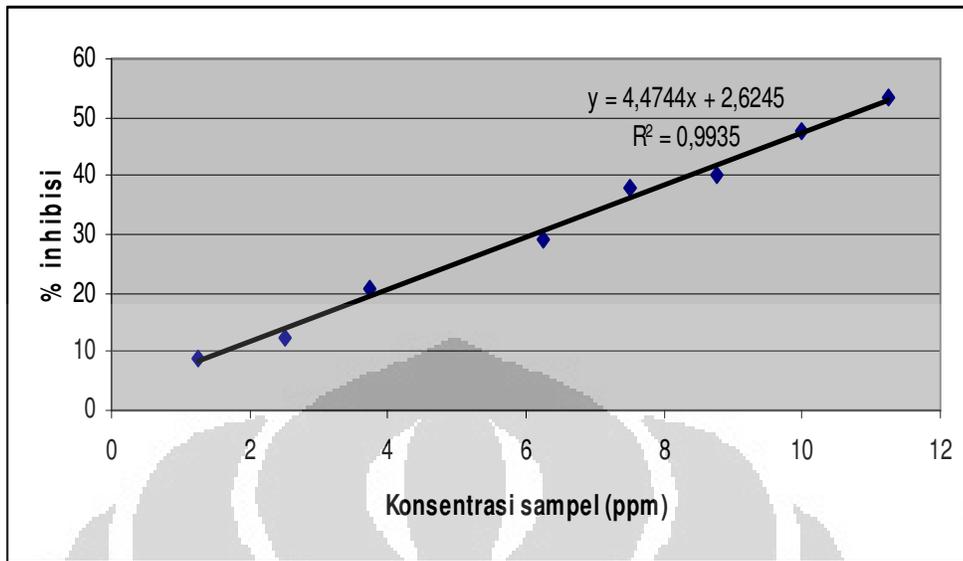
Gambar 4.5. Hasil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid ekstrak metanol (a) dan fraksi E (b) dengan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada sinar UV 366 nm setelah disemprot dengan pereaksi AlCl₃ 5%.



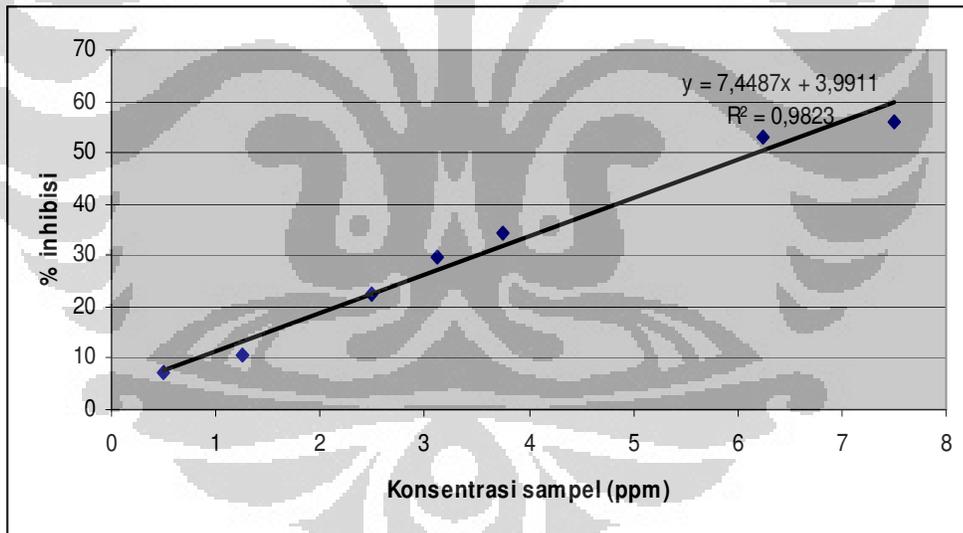
Gambar 4.6. Kurva hubungan konsentrasi standar kuersetin dengan % inhibisi



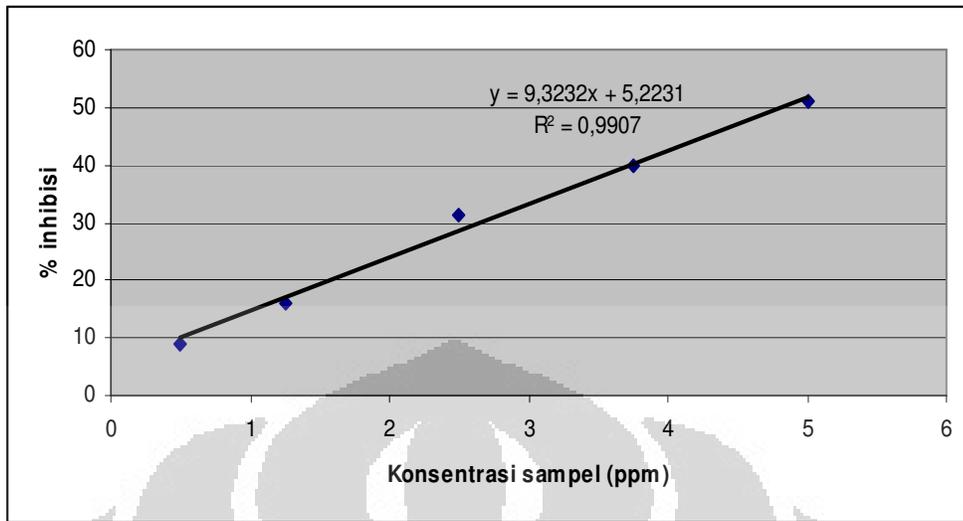
Gambar 4.7. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak n-heksan dengan % inhibisi



Gambar 4.8. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak etil asetat dengan % inhibisi



Gambar 4.9. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak metanol dengan % inhibisi



Gambar 4.10. Kurva hubungan konsentrasi fraksi E dengan % inhibisi



Tabel 4.1. Susut pengeringan

Bobot sebelum dikeringkan (g)	Bobot setelah dikeringkan (g)	Susut pengeringan (%)
3400	1500	55,88

Tabel 4.2. Rendemen ekstrak daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

Ekstrak simplisia	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
n-heksan	1500	35	2,33
etil asetat	1500	70	4,67
metanol	1500	190	12,67

Tabel 4.3. Data serapan dan % inhibisi uji aktivitas antioksidan standar kuersetin

Bahan uji	Konsentrasi		Serapan blangko	Serapan sampel	% inhibisi
	Konsentrasi (ppm)	sampel (ppm)			
Standar Kuersetin	1	0,25	0,442	0,389	11,9909
	2	0,5	0,442	0,363	17,8733
	4	1	0,442	0,316	28,5068
	6	1,5	0,442	0,222	49,7738
	10	2,5	0,442	0,110	75,1131

Tabel 4.4. Data serapan dan % inhibisi uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *G.lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl.

No	Bahan uji	Konsentrasi		Serapan blangko	Serapan sampel	% inhibisi
		Konsentrasi (ppm)	sampel (ppm)			
1	ekstrak n-heksan	50	12,5	0,581	0,531	8,6058
		100	25	0,581	0,469	19,2771
		150	37,5	0,581	0,424	27,0224
		170	42,5	0,581	0,400	31,1532
		200	50	0,581	0,354	39,0706
		250	62,5	0,581	0,274	52,8399
2	ekstrak etil asetat	5	1,25	0,487	0,443	9,0349
		10	2,5	0,487	0,427	12,3203
		15	3,75	0,487	0,387	20,5339
		25	6,25	0,487	0,345	29,1582
		30	7,5	0,487	0,302	37,9877
		35	8,75	0,487	0,291	40,2464
3	ekstrak metanol	40	10	0,487	0,254	47,8439
		45	11,25	0,487	0,228	53,1828
		2	0,5	0,484	0,450	7,0248
		5	1,25	0,484	0,433	10,5372
		10	2,5	0,484	0,375	22,5207
		12,5	3,125	0,484	0,341	29,5455
	15	3,75	0,484	0,317	34,5041	
	25	6,25	0,484	0,228	52,8926	
	30	7,5	0,484	0,212	56,1984	

Tabel 4.5. Data serapan dan % inhibisi uji aktivitas antioksidan fraksi E

Bahan uji	Konsentrasi (ppm)	Konsentrasi sampel (ppm)	Serapan blangko	Serapan sampel	% inhibisi
Fraksi E	2	0,5	0,410	0,373	9,0244
	5	1,25	0,410	0,344	16,0976
	10	2,5	0,410	0,281	31,4634
	15	3,75	0,410	0,247	39,7561
	20	5	0,410	0,201	50,9756

Tabel 4.6. Data nilai IC₅₀ standar kuersetin dan ekstrak daun *G. lateriflora* var. *javanica* Boerl.

No	Bahan uji	Persamaan regresi	Nilai IC ₅₀ (ppm)
1	standar kuersetin	$y = 28,793x + 3,5395$	1,6136
2	ekstrak n-heksan	$y = -3,2825 + 0,8594x$	61,9996
3	ekstrak etil asetat	$y = 4,4744x + 2,6245$	10,5881
4	ekstrak metanol	$y = 7,4487x + 3,9911$	6,1767

Tabel 4.7. Data nilai IC₅₀ fraksi hasil fraksinasi ekstrak metanol

No	Fraksi	Persamaan regresi	IC ₅₀ (ppm)
1	A (1-3)	-	-
2	B (4-6)	$y = 2,5431x + 4,2517$	17,9892
3	C (7-17)	$y = 0,9347x + 7,888$	45,054
4	D (18-21)	$y = 7,2274x + 6,1554$	6,0664
5	E (22-25)	$y = 9,3232x + 5,2231$	4,8027
6	F (26-27)	$y = 6,1474x + 5,1874$	7,2897
7	G (28)	$y = 7,9221x + 6,4001$	5,5036
8	H (29-34)	$y = 5,8469x + 0,6442$	8,4414
9	I (35-39)	$y = -1,2029 + 5,5501x$	9,2256
10	J (40-41)	$y = -1,4218 + 5,8564x$	8,7804

Tabel 4.8. Data penapisan fitokimia ekstrak daun *G. lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. dan fraksi teraktif

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Ekstrak n-heksan	Ekstrak etil asetat	Ekstrak Metanol	Fraksi E
Terpen	Lieberman-Burchard	+	+	-	-
Antrakuinon	Benzen+NaOH 2N	-	-	+	+
Alkaloid	Mayer LP	-	+	+	-
	Bouchardat LP	-	+	+	-
	Dragendorf LP	-	+	+	-
Flavonoid	Serbuk Zn + HCl 2N+ HCl (p)	-	+	+	+
	Serbuk Mg + HCl (p)	-	+	+	+
	Serbuk As.Borat+serbuk As.Oksalat	-	+	+	+
Saponin	Air Panas	-	-	+	+
	FeCl ₃	-	+	+	+
Tanin	Gelatin 10%	-	+	+	+
	NaCl-Gelatin	-	+	+	+
Glikosida	Molisch	-	+	+	+

Tabel 4.9. Hasil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid ekstrak metanol dengan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada sinar UV 366 nm setelah disemprot dengan pereaksi AlCl₃ 5%.

No	Nilai Rf	Warna bercak dengan sinar UV 366 nm
1	0,92	Merah muda
2	0,79	Kuning kehijauan
3	0,65	Kuning
4	0,59	Kuning kehijauan
5	0,52	Kuning
6	0,39	Biru
7	0,29	Biru

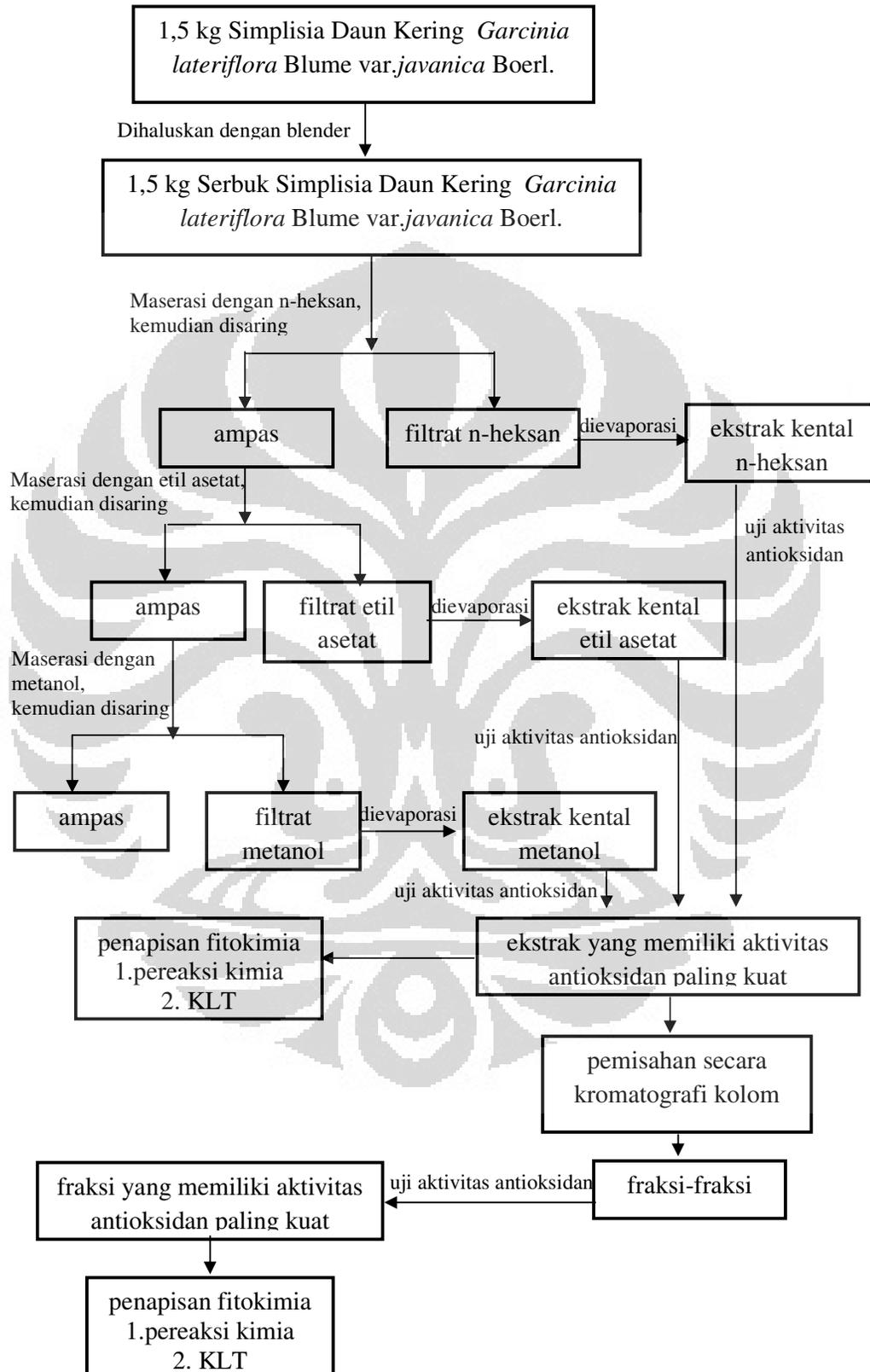
Tabel 4.10. Hasil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid fraksi E dengan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada sinar UV 366 nm setelah disemprot dengan pereaksi AlCl₃ 5%

No	Nilai Rf	Warna bercak dengan sinar UV 366 nm
1	0,94	Merah muda
2	0,89	Kuning muda
3	0,81	Kuning kehijauan
4	0,67	Kuning
5	0,60	Kuning kehijauan

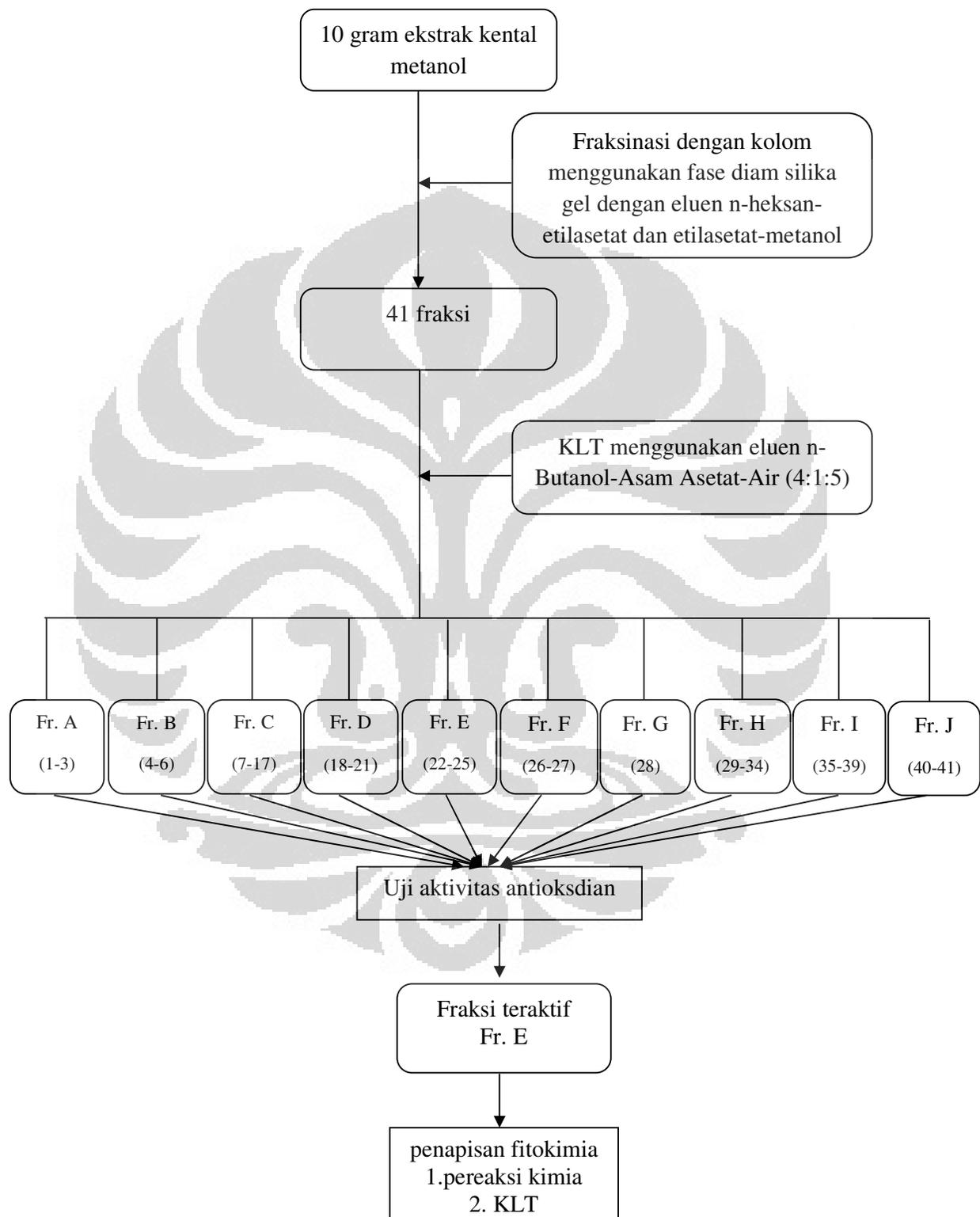


LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja



Lampiran 2. Bagan fraksinasi ekstrak metanol dengan kromatografi kolom dipercepat



Lampiran 3. Surat determinasi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT KONSERVASI TUMBUHAN - KEBUN RAYA BOGOR
(Center for Plant Conservation - Bogor Botanical Gardens)

Jalan Ir. H. Juanda No. 13, P.O. BOX 309 Bogor 16003, Indonesia
 Telepon (0251) 322187 - 321657 - 322220 - 311362, 352519, Fax. 62 (251) 322187, 313985
 e-mail : kriblipi@indosat.net.id

Bogor, 19 Oktober 2011

No. : 2447/IPH.3.02/KS/X/2011
 Lampiran : -
 Hal : Keterangan determinasi

Kepada Yth. :
 Sdr. Iin Marlin Simiati
 NPM: 0906601430
 Departemen Farmasi
 Universitas Indonesia
 Kampus UI Depok 16424
 Fax. 021 7863433

Dengan hormat,

Sehubungan dengan surat Sekretaris Departemen Farmasi Universitas Indonesia No. 1289/H2.F3.12/PDP.04.01.Skripsi/2011, dengan ini kami menerangkan bahwa material yang Saudari minta adalah *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl. (Clusiaceae).

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

a.n. KEPALA
 Kepala Bidang Konservasi *Ex-situ*

Dr. Joko Ridho Witono
 NIP. 197010091994031004

