



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN *Antidesma neurocarpum* Miq. DENGAN METODE 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL (DPPH) DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA DARI FRAKSI TERAKTIF**

**SKRIPSI**

**PUTU INDAH LIA  
0906601595**

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



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN *Antidesma neurocarpum* Miq. DENGAN METODE 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL (DPPH) DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA DARI FRAKSI TERAKTIF**

**SKRIPSI**

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

**PUTU INDAH LIA  
0906601595**

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

## SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 12 Juni 2012



(Putu Indah Lia)

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Putu Indah Lia

NPM : 0906601595

Tanda Tangan : 

Tanggal : Juli 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Putu Indah Lia

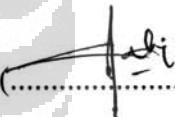
NPM : 0906601595

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa kimia Dari Fraksi Teraktif.

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

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Katrin, M.S., Apt

()

Pembimbing II : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt

()

Penguji I : Rani Sauriasari, M.Sc.,PhD.,Apt

()

Penguji II : Drs. Jahja Atmadja

()

Ditetapkan : Depok

Tanggal : Juli 2012

## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Putu Indah Lia  
NPM : 0906601595  
Program Studi : Farmasi Ekstensi  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Skripsi

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

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa kimia Dari Fraksi Teraktif.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihkan media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan 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 : Juli 2012

Yang Menyatakan



(Putu Indah Lia)

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang karena telah memberikan nikmat iman dan nikmat ilmu sehingga saya dapat menyelesaikan 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, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Dr. Katrin, MS dan Dr. Berna Elya, Msi. Selaku pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan saya selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
- (2) Dra. Maryati Kurniadi, M.si., Apt selaku pembimbing akademis yang telah membimbing saya selama mengikuti perkuliahan di farmasi.
- (3) Prof. Dr. Yahdiana Harahap selaku ketua departemen yang telah membimbing dan membantu selama mengikuti perkuliahan di farmasi.
- (4) Dra. Azizahwati, M.Si., Apt selaku ketua program ekstensi yang telah membimbing dan membantu selama mengikuti perkuliahan di farmasi.
- (5) Ibu Rosmalena yang telah banyak membantu saya baik berupa dukungan material dan moral selama penelitian berlangsung.
- (6) Zakiyah Ulfah selaku laboran, teman dekat yang telah banyak membantu sekaligus menyumbangkan pikiran-pikiran dalam menyelesaikan skripsi dan bersedia menyediakan alat-alat yang saya perlukan dalam masa-masa penelitian.
- (7) Seluruh staff dan dewan pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas bantuan dan bimbingannya selama mengikuti perkuliahan.
- (8) Pihak Pusat Konservasi dan LIPI Kebun Raya Bogor yang telah membantu dalam pengadaan bahan baku tanaman serta determinasi tanaman.

- (9) Kedua orang tua, kakek-nenek , adik tercinta serta seluruh keluarga besar saya yang saya cintai yang telah memberikan dukungan material maupun moral.
- (10) Dr. Emir R.L tercinta yang telah memberikan dukungan yang luar biasa kepada saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
- (11) Ka Aktsar, ka Ruth, ka lola, Anju yang telah memberikan banyak bantuan baik berupa ide-ide ataupun saran yang berguna dalam menyelesaikan skripsi.
- (12) Atika bendra, Prawita Lintang, Ali, Kartika, Yunita beserta teman-teman yang penelitian di laboratorium fitokimia atas kebersamaan yang indah yang telah memberikan banyak bantuan dan dukungan moral kepada penulis.

Semoga kebaikan mereka mendapat balasan berlipat dari Tuhan Yang Maha Esa. Akhir kata, saya berharap semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis  
2012



## ABSTRAK

Nama : Putu Indah Lia  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif

Radikal bebas adalah atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan dapat menjadi reaksi yang tidak terkontrol, namun reaktivitas radikal bebas dapat diatasi dengan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron sehingga reaktivitas dari radikal bebas dapat diredam. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan metanol daun *Antidesma neurocarpum* Miq. serta mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dari fraksi teraktif. Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan metanol. Ekstrak paling aktif dari fraksi hasil kolom diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Dari uji yang dilakukan diperoleh hasil bahwa semua ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang dapat ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak teraktif metanol, etil asetat, dan *n*-heksan secara berturut-turut adalah 2,18 ppm; 2,27 ppm; dan 41,15 ppm. Golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak metanol adalah terpen, flavonoid, saponin, glikosida dan tanin. Hasil fraksinasi kolom dipercepat dari ekstrak metanol dihasilkan 6 fraksi gabungan dan diperoleh fraksi teraktif yaitu fraksi E dengan nilai  $IC_{50}$  2,03 ppm dengan kandungan kimia adalah terpen, flavonoid, tanin, glikosida dan saponin.

Kata kunci : radikal bebas, antioksidan, identifikasi golongan senyawa, DPPH.

xiv + 62 halaman : 19 gambar, 6 tabel, 1 lampiran

Daftar referensi : 52 (1966-2012)

## ABSTRACT

Name : Putu Indah Lia  
Program Study : Pharmacy  
Title : Antioxidant Activity Leaf Extract of *Antidesma neurocarpum* Miq. with 1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazyl (DPPH) Method and Identification of Chemical Compounds of Active Fraction Extracts.

Free radicals are atoms, a cluster of atoms or molecule which have one or more electrons which is not paired. Free radicals are very reactive and could be an uncontrolled reaction, but it could be solved by antioxidant. Antioxidant is a compound that can donate one or more electrons to free radicals so that its reactivity could be muted. The aim of this research was to know the antioxidant activity of n-hexan, ethyl acetate and methanol *Antidesma neurocarpum* Miq. leaves extracts and to know the chemical compounds of the most active fraction. *Antidesma neurocarpum* Miq. leaves were macerated by n-hexan, ethyl acetate, and methanol. The most active of the extract and column fraction were tested its antioxidant activity by DPPH method. The results showed that all of the extracts had antioxidant activity, which looked from their % inhibition and IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> of methanol, ethyl acetate, and n-hexan extract were 2.18 ppm, 2.27 ppm and 41.15 ppm, respectively. Methanol extract contained terpene, flavonoids, saponin, glycoside and tanine. Six fractions were obtained from the accelerated fractionation of methanol extract and the most active fraction was fraction E with IC<sub>50</sub> was 2.03 ppm and it contained terpene, flavonoids, tanin, glicoside and saponin.

Key Words : free radical, antioxidant, phytochemical screening, DPPH.  
xiv + 62 pages : 19 pictures, 6 tables, 1 appendix  
Bibliography : 52 (1966-2012)

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PLAGIARISME.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Hasil Penelitian.....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Deskripsi Tanaman.....	4
2.2 Simplisia.....	6
2.3 Ekstraksi.....	6
2.4 Fraksinasi.....	8
2.5 Kromatografi.....	8
2.6 Penapisan Fitokimia.....	12
2.7 Antioksidan.....	14

2.8 Metode Pengujian Antioksidan.....	15
2.9 Spektrofotometer Ultraviolet.....	18
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	20
3.2 Alat.....	20
3.3 Bahan.....	20
3.4 Cara Kerja.....	21
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
4.1 Penyiapan Bahan.....	30
4.2 Ekstraksi Simplisia.....	30
4.3 Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	31
4.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq. Dengan Metode DPPH.....	34
4.5 Pemisahan Ekstrak Metanol Daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq. Secara Kromatografi Kolom Dipercepat.....	37
4.6 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi-faksi Hasil Fraksinasi Dari Ekstrak Metanol	39
4.7 Penapisan Fitokimia Fraksi Terakstif (Fraksi E).....	41
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>43</b>
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
<b>DAFTAR REFERENSI .....</b>	<b>45</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1.	Tanaman <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	48
Gambar 4.2.	Daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	48
Gambar 4.3.	Penguap putar vakum (Rotary evaporator).....	49
Gambar 4.4.	Spektrofotometer UV-Vis.....	49
Gambar 4.5.	Spektrum larutan DPPH 100 µg/ml dalam metanol pada panjang gelombang optimum(517nm).....	50
Gambar 4.6.	Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	50
Gambar 4.7.	Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan 6 fraksi dari ekstrak metanol.....	51
Gambar 4.8.	Profil KLT ekstrak metanol setelah disemprot dengan larutan $AlCl_3$ 5%, dengan eluen n-butanol:asam asetat glasial:aquadest (4:1:5), menunjukkan 5 bercak yang memiliki aktivitas antioksidan.....	51
Gambar 4.9.	Profil KLT uji alkaloid fraksi E, dengan eluen n-butanol:asam asetat glasial:aquadest (4:1:5), dengan penyemprot Dragendorf menunjukkan hasil negatif (tidak berwarna jingga).....	52
Gambar 4.10.	Profil KLT fraksi E setelah disemprot dengan larutan $AlCl_3$ 5%, dengan eluen n-butanol:asam asetat glasial:aquadest (4:1:5), menunjukkan 1 bercak yang memiliki aktivitas antioksidan.....	52
Gambar 4.11.	Profil KLT uji terpenoid fraksi E, dengan eluen butanol-asam asetat glasial-aquades (4:1:5), dengan penyemprot vanilin-asam sulfat hasil positif (berwarna biru-ungu).....	53
Gambar 4.12.	Profil KLT uji tanin fraksi E, dengan eluen butanol-asam asetat glasial-aquades (4:1:5), dengan penyemprot $FeCl_3$ menunjukkan hasil positif (kehitaman).....	53
Gambar 4.13.	Kurva hubungan konsentrasi kuersetin dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH.....	54
Gambar 4.14.	Kurva hubungan konsentrasi ekstrak n-heksan dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH.....	54
Gambar 4.15.	Kurva hubungan konsentrasi ekstrak etil asetat dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH.....	55
Gambar 4.16.	Kurva hubungan konsentrasi ekstrak metanol dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH.....	55
Gambar 4.17.	Kurva hubungan konsentrasi fraksi E dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH.....	56
Gambar 4.18.	Bagan uji aktivitas antioksidan daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	57
Gambar 4.19.	Bagan fraksinasi ekstrak metanol dengan kromatografi kolom dan uji aktivitas antioksidan fraksi yang teraktif.....	58

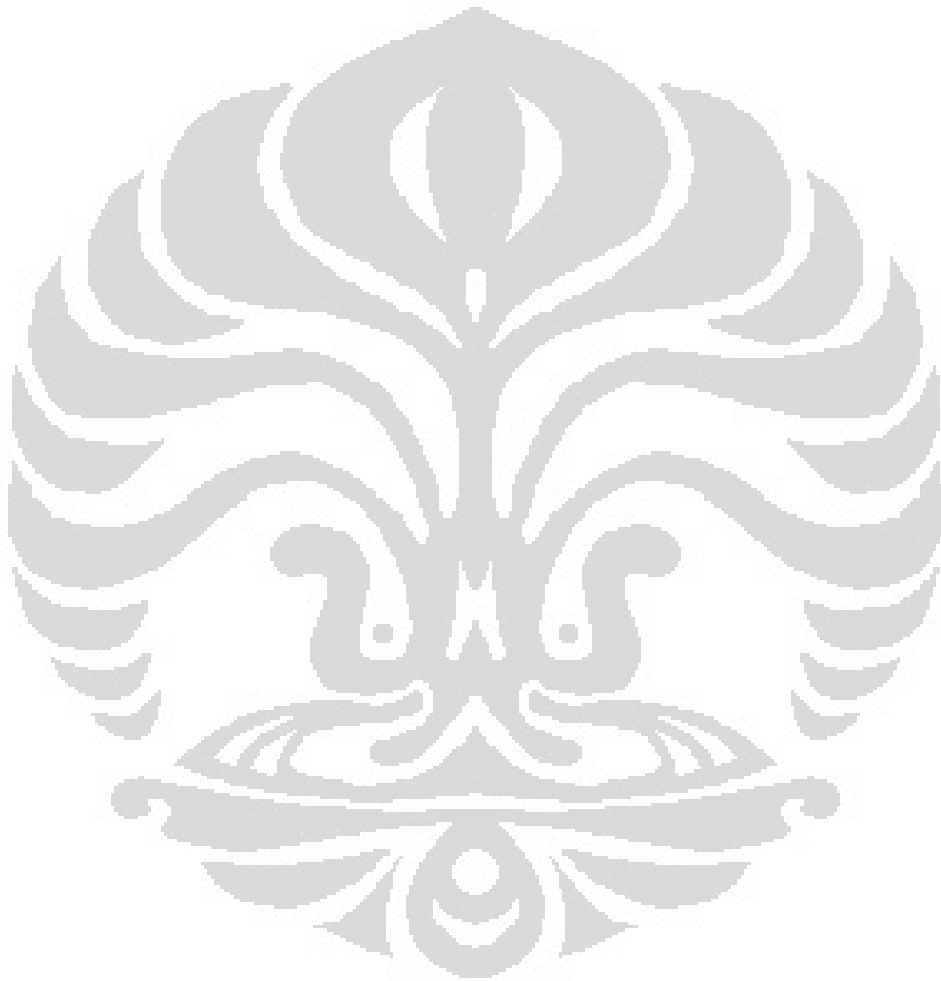
## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Bobot ekstrak kental dan nilai % rendemen.....	31
Tabel 4.2.	Hasil identifikasi golongan senyawa pada daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	33
Tabel 4.3.	Data hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	37
Tabel 4.4.	Hasil fraksinasi ekstrak metanol <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.dengan kromotografi kolom dipercepat dan penggabungan fraksi.....	38
Tabel 4.5.	Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi gabungan dari ekstrak metanol daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	41
Tabel 4.6.	Hasil identifikasi golongan senyawa fraksi E dari ekstrak metanol daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.....	42



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat Determinasi Tanaman .....	60
-------------	---------------------------------	----



# BAB 1 PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga menyebabkan radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya dengan tujuan memperoleh pasangan elektron (Halliwell, B., Gutteridge, dan Cross, C.E, 1992).

Reaksi ini akan berlangsung terus-menerus di dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, penuaan dini, jantung serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu senyawa yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga radikal bebas dapat diredam (Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., dan Tamiguchi, 2000).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002). Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah terjadinya kerusakan tubuh yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki oleh radikal bebas tersebut (Prakash, A., 2001). Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun alami. Penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dari hasil penelitian diketahui bahwa antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxyl Toluena*) 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 tumbuh-tumbuhan yang tersebar di seluruh nusantara.

Indonesia merupakan negara megabiodiversitas yang terdiri dari banyak hutan dimana hutan-hutan ini memiliki jenis tumbuhan dengan jumlah yang luar biasa besar. Kebanyakan masih belum dieksplorasi dan memiliki potensi sebagai sumber obat (Wahyuningsih et al., 2008). Dengan melihat kenyataan tersebut maka usaha-usaha untuk menggali informasi kandungan senyawa kimia dan bioaktivitas tumbuhan obat melalui penelitian ilmiah menjadi sangat penting.



Antidesma adalah salah satu dari marga tumbuhan dalam suku Euphorbiaceae yang paling banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional dan belum banyak diteliti ( Buske et al, 2009 dan Julius et al, 2001). Antidesma merupakan tanaman dikotil yang berupa semak atau pohon yang tersebar di Asia dan Afrika. Di Indonesia Antidesma terdapat di beberapa wilayah antara lain di hutan Sumatera dan Kalimantan. Di dunia terdapat lebih dari 170 jenis antidesma, sebagian besar tumbuh di Asia dan kurang dari 10 jenis ditemukan di Afrika (Alembert et al, 2005). Jenis ini umumnya mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan lignan (Rizvi, S.H., Shoeb, A., Kapil, R.S dan Popli, S.P, 2005).

Salah satu jenis tanaman Antidesma adalah *Antidesma neurocarpum* Miq. Daun tanaman ini mengandung alkaloid, glikosida, tanin, antrakuinon, flavonoid (Elya, B., Basah, K., Mun'im, A., Yuliasuti, W., Bangun, A., dan Septiana, E. K, 2012). Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan dari tanaman *Antidesma neurocarpum* Miq. dengan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dimana metode ini merupakan metode terpilih untuk menguji aktivitas antioksidan bahan alam ( Molyneux, 2004; Leong dan Shui, 2002). Metode ini dalam pelaksanaannya mudah, murah, cepat dan memerlukan sedikit sampel untuk menetapkan kapasitas antioksidan dan hasilnya dapat dipercaya (Koleva et al, 2001), sehingga digunakan dalam beberapa penelitian aktivitas antioksidan dalam jurnal-jurnal ilmiah.

## 1.2 Rumusan Masalah

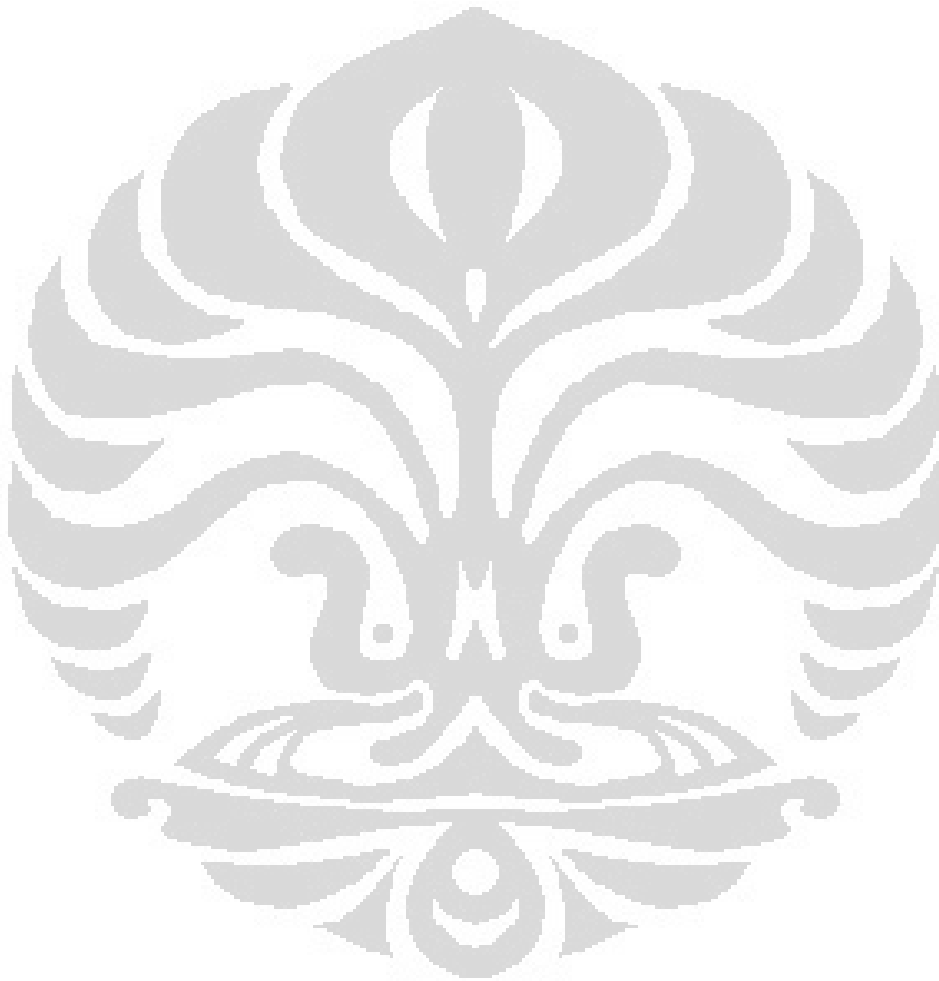
Berdasarkan literatur belum ditemukan adanya penelitian tentang aktivitas antioksidan pada daun *Antidesma neurocarpum* Miq. menggunakan metode DPPH oleh karena itu dicoba dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak daun *Antidesma neurocarpum* Miq .

## 1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan metanol daun *Antidesma Neurocarpum* Miq.
- b. Mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dari fraksi yang teraktif.

#### 1.4 Manfaat Hasil Penelitian

- a. Memberikan informasi aktivitas antioksidan dari tanaman *Antidesma neurocarpum* Miq.
- b. Menambah data ilmiah mengenai jenis *Antidesma neurocarpum* Miq.
- c. Mendorong adanya penemuan antioksidan baru dari bahan alam sehingga dapat mengurangi penggunaan antioksidan sintetik.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Deskripsi Tanaman

#### 2.1.1 Taksonomi *Antidesma neurocarpum* Miq.

*Antidesma neurocarpum* Miq. memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut:

Kerajaan	:	Plantae
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Bangsa	:	Euphorbiales
Suku	:	Euphorbiaceae
Marga	:	Antidesma
Jenis	:	<i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.

(Indonesian institute of sciences national biological, 1985; Jones, S.B dan Luchsinger, A.E, 1987).

#### 2.1.2 Nama daerah

(Sumatra) Boriengen Riembo, Ingara Lelen, Kayu Keliengoh, Kayu Si Basa, Kayu Saber Bubu, Kayu Selipei, Useu-Useu Lutung, Sale Sale Balah; (Kalimantan) Beleti Limbo, Kayu Tahum, Mayan Rimbo, Menyalin, Patah Jarum, Pondok, Uhai Arong (Hoffman, 2006).

#### 2.1.3 *Antidesma neurocarpum* Miq.

Tumbuhan berupa pohon atau perdu, tinggi sampai dengan 23 m, diameter 20 cm, ranting biasanya berwarna putih hingga cokelat ke abu-abuan, juga kuning atau cokelat, cabang muda berbentuk silinder, awalnya berwarna cokelat semakin tua berwarna abu-abu. Kulit batang berwarna cokelat, abu-abu, putih, krem, hijau atau cokelat kemerahan, tebal 1-2 mm, permukaan kulit batang halus, sering mengelupas tetapi tidak retak, kulit batang bagian dalam berwarna putih, hijau, abu-abu, cokelat, merah muda, ungu, merah atau kuning, tebal 1-2,5 mm, berserat, lunak, kambium berwarna kuning, putih, hijau, merah muda atau kemerahan. Kayu keras dan padat. Kayu berwarna putih, kuning, cokelat, merah muda atau

merah. Daun berbentuk pisau, oval, elips hingga linear, kadang-kadang berbentuk sabit, panjang 9-14 cm dan lebar 3-4 cm, bagian atas permukaan daun tidak berbulu dan mengkilap, bagian bawah permukaan daun kusam dan kadang mengkilap, daun yang kering berwarna cokelat kemerahan hingga abu-abu. (Hoffman, 2006).

#### 2.1.4 Kandungan Kimia

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Elya, B., dkk, daun *Antidesma neurocarpum* Miq. mengandung alkaloida, glikosida, tanin, antrakuinon dan flavonoid. Daun *Antidesma bunius*: glikosida, tanin, saponin, sterol-terpen dan antrakuinon; rantingnya: alkaloid, glikosida, tanin, saponin dan sterol-terpen. Sedangkan daun *Antidesma montanum* mengandung alkaloid, glikosida, tanin, saponin dan sterol-terpen. Daun *Antidesma celebium*: glikosida, tanin, saponin, antrakuinon dan flavonoid. Daun *Antidesma ghasembilla* mengandung glikosida, tanin, dan resin (Razibul, H, 2011).

#### 2.1.5 Khasiat dan kegunaan

Daun *Antidesma neurocarpum* Miq berkhasiat sebagai obat penutup luka. Pada penelitian beberapa tumbuhan yang termasuk dalam marga *Antidesma* menunjukkan adanya efek antibakteri dari *Antidesma madagascariensis* (Rizvi, S.H , Shoeb, A, Kapil, R.S dan Popli, S.P, 2005) dan *Antidesma ghasembilla* (Razibul, H, 2011), efek antiinflamasi dan diuretik ditunjukkan oleh *Antidesma menasu* (Chen, Y.C, 2004) efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 (kanker payudara) dan sel SF-268 (kanker otak) secara *in vitro* ditunjukkan oleh *Antidesma pentandrum* (Meyer dan Ferrigni, 1982), efek antimalaria dari *Antidesma lacinatum* (Alembert dkk, 2006) serta kemampuan menghambat enzim alfa glukosidase yang ditunjukkan oleh *Antidesma neurocarpum* Miq. (Elya, B., Basah, K., Mun'im, A., Yuliasuti, W., Bangun, A., dan Septiana, E. K, 2012).

## 2.2 Simplisia

Simplisia didalam Materia Medika Indonesia diartikan sebagai bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia berdasarkan sumbernya dapat dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (isi sel) yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan pelikan yang belum diolah dengan cara sederhana atau belum berupa zat kimia murni (Departemen Kesehatan, 1995).

## 2.3 Ekstraksi

### 2.3.1 Metode Ekstraksi (Parameter Standar, 2000)

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak terlarut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstraksi mengandung berbagai senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa aktif yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain.

Beberapa metode ekstraksi yang digunakan, antara lain:

#### 2.3.1.1 Cara dingin

##### a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Dilakukan dengan cara merendam bahan simplisia yang telah dihaluskan dengan derajat kehalusan yang cocok ke dalam bejana tertutup dengan cairan penyari, kemudian disimpan di tempat yang terlindungi dari cahaya langsung selama 3-5 hari sambil sesekali diaduk (Voight, 1995). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

## b. Perkolasi

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

### 2.3.1.2 Cara panas

#### a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarutnya terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termaksud proses ekstraksi sempurna.

#### b. Soxhlet

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

#### c. Digesti

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

#### d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96°-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

#### e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air selama 30 menit.

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor-faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, kemudahan bekerja, ekonomis, ramah lingkungan,

serta keamanan. Saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air atau etanol atau campuran dari keduanya.

#### **2.4. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah cara pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda tergantung pada jenis simplisia. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan tertarik ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan tertarik ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

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

Metode yang umumnya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa yaitu metode kromatografi. Untuk tujuan kualitatif dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT) sedangkan untuk pemisahan senyawa dalam jumlah besar dapat digunakan kromatografi kolom (Parameter Standar, 2000).

#### **2.5 Kromatografi**

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut di antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan sedangkan fase gerak dapat berupa cairan atau gas. Fase gerak membawa zat terlarut melalui media hingga terpisah dari zat lainnya, yang terelusi lebih awal atau lebih akhir. Jika fase diam berupa zat padat aktif, maka teknik ini disebut

kromatografi penjerapan dan jika berupa zat cair, maka disebut kromatografi partisi (Harmita, 2006).

Kromatografi yang biasa digunakan dalam pemisahan dan pemurnian kandungan kimia bahan alam, terdiri dari:

### 2.5.1 Kromatografi Lapis Tipis

KLT merupakan salah satu teknik kromatografi yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif senyawa organik, isolasi senyawa tunggal dari campuran multikomponen, analisis kuantitatif dan isolasi skala preparatif (Waksmundzka, Hajnos, Sherma, Kowalska, 2008). Selain itu KLT digunakan untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi, dan isolasi senyawa murni skala kecil (Gritter, Bobbit, dan Arthur, 1991).

KLT melibatkan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak atau campuran pelarut pengembang. Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai penyangga untuk lapisan zat cair. Penjerap yang paling umum digunakan adalah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oksida), kieselgur (tanah diatom), dan selulosa (Gritter, Bobbit, dan Scwaring, 1985).

#### a. Fase diam

Merupakan lapisan tipis penjerap yang seragam atau media terpilih digunakan sebagai media pembawa. Penjerap dilekatkan pada penyangga sebagai pelapis untuk mendapatkan lapisan yang stabil dengan ukuran yang sesuai. Penyangga yang sering digunakan terbuat dari bahan gelas, plastik dan aluminium, sedangkan penjerap yang paling sering digunakan antara lain silika gel, alumina, kieselguhr dan selulosa (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Ukuran standar untuk lempeng KLT adalah 20 x 20 cm. Ukuran lainnya dari lempeng antara lain 5 x 20 cm, 10 x 20 cm dan 20 x 40 cm (Gritter, Bobbit dan Schwaring, 1991).

#### b. Fase Gerak

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



c. Penyiapan dan Penotolan sampel

Beberapa cara penyiapan sampel dilakukan dengan tujuan membuat sampel yang siap untuk dianalisis secara kromatografi. Cara tersebut dapat berupa pelarutan sampel, ekstraksi, kromatografi kolom, sentrifugasi dan penguapan.

Sampel dilarutkan pada pelarut yang sesuai. Larutan sampel yang ditotolkan paling sedikit 0,5  $\mu\text{L}$ . Jika volume sampel yang ditotolkan lebih besar dari 2-10  $\mu\text{L}$ , maka penotolan harus dilakukan secara bertahap dengan dilakukan pengeringan antar totolan. Penotolan dilakukan pada garis awal berupa titik atau pita. Penotolan berupa titik sebaiknya mempunyai diameter antara 2 mm dan paling besar 5 mm (Stahl, 1969).

d. Pengembangan

Bila sampel telah ditotolkan maka tahap selanjutnya adalah mengembangkan sampel dalam bejana yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan uap fase gerak. Tepi bagian bawah lempeng lapis tipis yang telah ditotoli sampel dicelupkan kedalam fase gerak kurang lebih 0,5-1 cm. Tinggi fase gerak dalam bejana harus dibawah lempeng yang telah berisi totolan sampel (Gandjar, I.G., dan Rohman, A, 2007).

Bejana kromatografi harus tertutup rapat dan sedapat mungkin volume fase gerak sedikit mungkin (akan tetapi harus mampu melulusi lempeng sampai mencapai ketinggian lempeng yang telah ditentukan). Untuk melakukan penjenuhan fase gerak, biasanya bejana dilapisi dengan kertas saring. Jika fase gerak telah mencapai ujung dari kertas saring, maka dapat dikatakan bahwa fase gerak telah jenuh.

Dengan adanya gaya kapiler tersebut akan menyebabkan fase gerak bergerak melewati media dalam proses yang disebut pengembangan. Setelah fase gerak telah hampir mencapai ujung lainnya (batas akhir penotolan) dari lempeng, maka lempeng dipindahkan dan dikeringkan sebelum prosedur pendeteksian (Touchstone dan Dobbins, 1983).

e. Metode Deteksi

Bercak yang terpisah dapat diamati dengan beberapa metode setelah lempeng dikeringkan. Deteksi bercak dapat dilakukan secara metode kimia dan fisika. Metode kimia yang biasa digunakan adalah dengan cara mereaksikan

bercak dengan suatu pereaksi melalui langkah penyemprotan sehingga bercak menjadi lebih jelas. Metode fisika untuk mendeteksi bercak antara lain dengan cara mengamati lempeng di bawah lampu ultra violet pada panjang gelombang emisi 254 atau 366 nm (Rohman, A., 2009).

f. Perhitungan Nilai Rf

Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik awal dan pusat bercak yang dihasilkan senyawa dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik awal sampai titik akhir (yaitu jarak yang ditempuh cairan pengembang). Bilangan ini selalu berupa pecahan dan terletak antara 0,01-0,99 (Harborne, 1987).

### 2.5.2 Kromatografi Kolom

Salah satu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar dengan menggunakan kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom fase diam yang digunakan dapat berupa silika gel, selulosa atau poliamida. Sedangkan fase gerak dapat dimulai dengan pelarut non polar kemudian ditingkatkan kepolarannya secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal ataupun kombinasi dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai tingkat kepolaran yang dibutuhkan (Stahl, 1969; Harmita, 2006). 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. Kolom kromatografi dibagi menjadi dua jenis yaitu kromatografi kolom lambat dan kromatografi kolom dipercepat. Pada kromatografi kolom dipercepat, pelarut pengembang didorong dengan cepat (menggunakan tekanan gas) (Gritter, Bobbit dan Schwarting, 1991).

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

## 2.6 Penapisan Fitokimia (Harborne, 1987 ).

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

### 2.6.1 Terpen

Terpen adalah suatu senyawa yang tersusun oleh molekul isopren  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$  dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan isopren. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang kurang menguap dan yang tidak menguap, triterpen, dan sterol. Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan eter dan kloroform. Saponin dan glikosida jantung merupakan golongan senyawa triterpen atau steroid yang terdapat dalam bentuk glikosida.

### 2.6.2 Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan berbentuk siklik. Menurut sifatnya alkaloid umumnya berbentuk kristal padat dan sebagian kecil bersifat cair, memutar bidang polarisasi dan terasa pahit. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan dengan memakai air yang diasamkan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam. Alkaloid dapat dideteksi dengan cara pengendapan menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat.

### 2.6.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang umumnya terdapat pada tumbuhan berpembuluh. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Biasanya dalam menganalisis flavonoid, yang diperiksa adalah aglikon dalam ekstrak tumbuhan yang sudah dihidrolisis. Flavonoid bagi tumbuhan

betindak sebagai penarik serangga yang berperan dalam proses penyerbukan dan menarik perhatian binatang yang membantu penyerbukan.

#### 2.6.4 Kuinon dan Antrakuinon

Kuinon merupakan senyawa berwarna. Kuinon dibagi menjadi beberapa kelompok untuk tujuan identifikasi, yaitu : benzokuinon, naftokuinon dan antrakuinon diperlukan hidrolisis asam untuk melepas kuinon bebasnya. Sedangkan kuinon isoprenoid yang terlibat dalam respirasi sel dan fotosintesis diperlukan cara khusus untuk memisahkannya dari bahan lipid lain. Antrakuinon bila dihidrolisis akan terurai menjadi di, tri, atau tetra- hidroksi antrakuinon sebagai aglikon atau modifikasi dari senyawa tersebut.

#### 2.6.5 Glikosida

Glikosida merupakan suatu senyawa yang bila dihidrolisis akan terurai menjadi gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin). Pada umumnya glikon berupa glukosa, fruktosa, laktosa, galaktosa dan manosa. Dapat pula berupa gula khusus seperti samentosa, oleandrosa, simarosa dan rutinosa. Sedangkan aglukosa (genin) biasanya mempunyai gugus -OH dalam bentuk alkoholis atau fenolis. Glikosida pada tanaman biasanya terdapat dalam bentuk  $\beta$ -glikosida. Glikosida yang berkhasiat obat dapat digolongkan menjadi glikosida jantung, antrakinin, saponin, sianofor, tiosianat, flavonol, aldehyd, alkohol, lakton dan fenol.

#### 2.6.6 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang jika dikocok kuat akan menimbulkan busa. Pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus. Pada umumnya, saponin bereaksi netral (larut dalam air), beberapa ada yang bereaksi asam (sukar larut dalam air) dan sebagian kecil ada yang bereaksi basa. Identifikasi dapat dilakukan dengan mengocok ekstrak dengan air hangat di dalam tabung reaksi dan akan timbul busa yang dapat bertahan lama, setelah penambahan HCl 2 N busa tidak hilang

### 2.6.7 Tanin

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, rasa sepat dan mampu menyamak kulit. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer yang tak larut dalam air.

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

## 2.7 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002). Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Packer, L.M., Hiramatsu, T. dan Yoshikawa, 1999).

Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Kerusakan sel oleh radikal bebas tampaknya menjadi penyebab utama penuaan dini dan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, katarak, penurunan sistem kekebalan tubuh dan disfungsi otak. Keberadaan senyawa antioksidan bermanfaat untuk meredam radikal bebas tersebut (Percival, 1998).

Secara umum antioksidan dapat dikelompokkan berdasarkan sumber dan mekanisme reaksinya. Antioksidan berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia). Beberapa dari

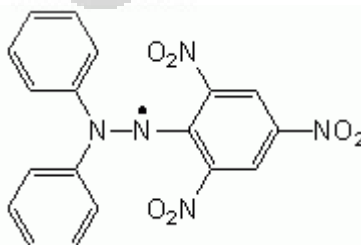
antioksidan sintetik yang telah banyak digunakan adalah antioksidan dari golongan fenol seperti BHA (*butylated hydroxyanisol*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), TBHQ (*tersier butylhydroquinone*) dan ester dari asam galat seperti PG (propil galat) (Gordon, 1990). Antioksidan sintetik telah sepenuhnya diuji reaksi toksisitasnya tetapi beberapa diantaranya menjadi toksik setelah penggunaan dalam waktu lama (Takashi dan Takayuni, 1997). Antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alam) ditemukan pada sebagian besar tanaman, mikroorganisme, jamur dan jaringan pada binatang (Gordon, 1990). Antioksidan alami dari golongan fenol dan turunannya misalnya flavonoid, tokoferol, lignan dan asam fenolat (Pokorni, 2001).

Antioksidan berdasarkan mekanisme reaksi yaitu antioksidan primer dimana antioksidan dapat memberikan atom hidrogen kepada senyawa radikal yang terbentuk dan diubah menjadi senyawa yang tidak reaktif atau stabil. Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Sedangkan antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas (Winarsi, 2007).

## 2.8 Metode Pengujian Antioksidan

Beberapa metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan, antara lain:

### 2.8.1 Metode Peredaman Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

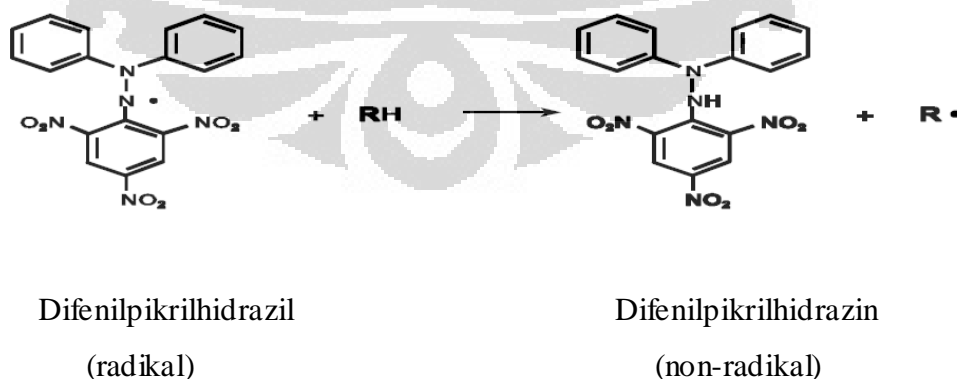


[Sumber: Molyneux, P, 2004]

Gambar 2.1 : Struktur DPPH

Radikal bebas yang biasa digunakan adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik akan stabil selama bertahun-tahun. Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan yaitu berupa donasi proton kepada radikal (Pokorni, 2001). Donasi proton menyebabkan radikal DPPH berwarna ungu menjadi senyawa non-radikal yang akan kehilangan warna ungunya yang mana pemudaran warna ini dapat ditunjukkan dengan adanya penurunan serapan dari DPPH pada panjang gelombang optimumnya yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. 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-diphenil-2-pikrilhidrazin (Juniarti, Delvi, O., dan Yuhernita, 2009). Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode DPPH adalah  $IC_{50}$  (*inhibition concentration*).  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, P, 2004).

Berikut reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan.



[Sumber: Molyneux, P, 2004]

Gambar 2.2 Reaksi peredaman radikal DPPH

### 2.8.2 Metode *Reducing Power*

Metode ini didasarkan pada prinsip peningkatan absorbansi dari reaksi campuran. Peningkatan absorbansi menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan. Dalam metode ini antioksidan membentuk kompleks berwarna terhadap kalium ferrisianida, asam trikloroasetat dan besi (III) klorida, lalu serapan diukur pada panjang gelombang 700 nm. Peningkatan pada serapan campuran reaksi menunjukkan kekuatan mereduksi dari antioksidan (Joseph, G.S., Jayaprakasha, Selvi A.T., Jena B.S., Sakariah K.K, 2005) .

### 2.8.3 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).

### 2.8.4 Metode Tiosianat

Aktivitas antioksidan sampel dengan metode tiosianat ditunjukkan dengan kekuatan sampel dalam menghambat peroksidasi asam linoleat. Jumlah peroksida yang terbentuk diukur secara tidak langsung dengan pembentukan kompleks ferritiosianat yang berwarna merah. Senyawa AAPH pada pemanasan akan menginduksi pembentukan radikal dan menyebabkan terjadinya peroksidasi asam linoleat. Peroksida yang terbentuk akan mengoksidasi ion ferro menjadi ferri. Antioksidan kuat akan menunjukkan grafik antara serapan dan waktu inkubasi yang landai (Mun'im, Azizahwati dan Trastiana, 2008).



### 2.8.5 Aktivitas penghambatan Radikal Superoksida

Metode ini didasarkan pada pembangkitan radikal superoksida oleh autooksidasi dari riboflavin dengan adanya cahaya. Radikal superoksida mereduksi NBT (Nitro biru tetrazolium) menjadi formazon yang berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 560 nm (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Laksman, 2005).

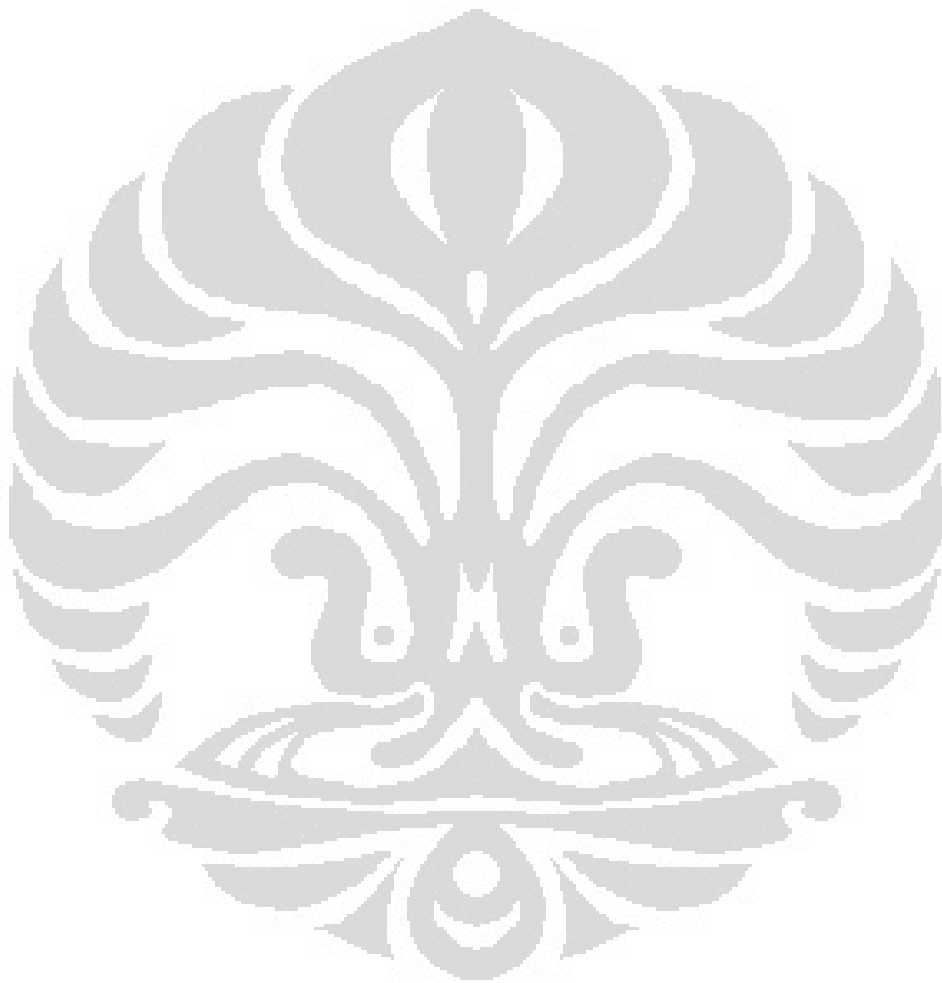
## 2.9 Spektrofotometer Ultraviolet

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 190 nm-380 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 380 nm-780 nm). Senyawa atau zat yang dapat diperiksa adalah zat yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi atau yang lebih dikenal dengan istilah kromofor. Senyawa yang mengandung gugus kromofor akan mengabsorpsi radiasi sinar ultraviolet dan cahaya tampak jika diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Gugus auksokrom adalah gugus yang memiliki elektron non bonding dan tidak menyerap radiasi sinar ultraviolet jauh, contohnya  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-X$  (Harmita, 2006).

Spektrum serapan adalah hubungan antara serapan dengan panjang gelombang yang biasanya digambarkan dalam bentuk grafik. Spektrum serapan dari zat yang diperiksa kadang kala perlu dibandingkan dengan pembanding kimia yang sesuai. Pembanding kimia yang digunakan tersebut dikerjakan dengan cara dan dalam kondisi yang sama dengan zat yang akan diperiksa. Blanko digunakan untuk koreksi serapan yang disebabkan oleh pelarut pereaksi dan pengaturan alat. Pengukuran serapan biasanya dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum ataupun yang sudah tercantum dalam monografi (Departemen Kesehatan, 1979).

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. Sedangkan pada jenis *double beam* celah keluar

sinar monokromatis ada dua, wadah kedua kuvet dapat dilalui sinar dengan sekaligus dan hanya cukup satu kali dinolkan dengan cara mengisi kedua kuvet dengan larutan blanko ( Harmita, 2006).



## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Laboratorium Penelitian Fitokimia dan Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (FMIPA UI) Depok, selama kurang lebih lima bulan.

#### 3.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *blender*, peralatan maserasi, penguap putar (*rotary evaporator buchii*), labu ukur, pipet volum, pipet mikro (Eppendorf, Amerika Serikat), alat-alat gelas, cawan penguap, corong, kertas saring, timbangan analitik (And, Jepang), alat destilasi, lemari pendingin, peralatan kromatografi kolom berbagai ukuran (Pyrex), peralatan kolom kromatografi vakum (Buchii), vial dan botol penampung berbagai ukuran, spektrofotometer *UV-Vis* (Hitachi), kuvet kuarsa, bejana elusi, *vorteks mixer* (Health, Jepang).

#### 3.3 Bahan

##### 3.3.1 Bahan Uji

Tanaman yang diteliti adalah *Antidesma neurocarpum* Miq. yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor. Adapun bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman tersebut.

##### 3.3.2 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan metanol teknis (Brataco, Indonesia) yang telah didestilasi; metanol p.a (Merck, Jerman); lempeng KLT F<sub>254</sub> (Merck, Jerman); H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 % sebagai penampak noda pada KLT; silika gel 60 (Merck, Jerman); asam klorida p.a (Merck, Jerman); asam sulfat p.a (Merck, Jerman); benzene p.a (Merck, Jerman);

asam asetat anhidrat; asam borat; asam oksalat; besi (III) klorida; asam asetat glasial; butanol; aquadest; natrium hidroksida; serbuk magnesium; serbuk seng; gelatin; natrium klorida; Mayer LP; Dragendorff LP; Bouchardat LP; Molisch LP; DPPH (Sigma-Aldrich); dan kuersetin (Sigma-Aldrich).

### 3.4 Cara Kerja

#### 3.4.1 Penyiapan Bahan

Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. yang digunakan pada penelitian ini dikumpulkan sebanyak 2,3 kg daun yang telah dikeringkan pada bulan Desember 2011 dari Kebun Raya Bogor dan dideterminasi di LIPI Kebun Raya Bogor. Selanjutnya dilakukan sortasi untuk dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji. Daun yang telah disortir dihaluskan dengan *blender*, kemudian serbuk disimpan dalam wadah bersih dan terlindung dari cahaya.

#### 3.4.2 Ekstraksi

Sejumlah 2 kg serbuk kering daun *Antidesma neurocarpum* Miq. diekstraksi dengan metode maserasi. Empat buah bejana maserasi masing-masing diisi dengan 500 mg serbuk daun *Antidesma neurocarpum* Miq. kemudian ditambahkan pelarut *n*-heksan yang telah didestilasi sebanyak 3 liter (jumlah pelarut yang digunakan diawal maserasi), serbuk yang sudah terendam pelarut dikocok selama 6 jam, kemudian didiamkan selama 18 jam. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum sampai didapat ekstrak kental tetapi masih bisa dituang ke dalam cawan penguap dan diuapkan di penangas air pada suhu lebih kurang 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksan. Pengulangan remaserasi dilakukan sebanyak tujuh kali sampai filtrat mendekati tidak berwarna dengan total pelarut 7 liter. Terhadap ampas *n*-heksan dikeringkan dan dilakukan maserasi kembali berturut-turut dengan pelarut etil asetat dan metanol masing-masing sebanyak 7 liter, kemudian masing-masing filtrat yang diperoleh tersebut diuapkan dengan penguap putar vakum hingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan metanol, kemudian masing-masing ekstrak ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal.

### 3.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Antidesma neurocarpum* Miq.

Pada masing-masing ekstrak yaitu ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol diuji aktivitas antioksidan dengan metode Blois. Nilai  $IC_{50}$  dihitung menggunakan rumus persamaan regresi. Tahap awal pengujian, dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak. Masing-masing ekstrak yang akan diuji ditimbang sejumlah 10 mg dan dilarutkan dalam pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi sebelumnya. Konsentrasi masing-masing larutan ekstrak dibuat sama yaitu 1000 ppm. Selanjutnya ditotolkan pada kertas kromatogram dengan menggunakan pipet kapiler. Setelah totolan kering, kertas kromatogram tersebut disemprot dengan larutan DPPH (100 ppm), tunggu beberapa saat maka akan terjadi perubahan warna pada kertas. Apabila menunjukkan hasil yang positif akan muncul bercak berupa zona kuning dengan latar belakang ungu. Hal ini menunjukkan adanya komponen aktif yang menghambat radikal bebas larutan DPPH.

#### 3.4.3.1 Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah 10 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi DPPH 100 ppm.

#### 3.4.3.2 Optimasi panjang gelombang DPPH

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

#### 3.4.3.3 Pembuatan larutan blanko

Larutan blanko yang digunakan adalah 1,0 mL metanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,0 mL DPPH, lalu ditambahkan 2,0 mL metanol dikocok hingga homogen. Diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}C$  selama 30 menit.

#### 3.4.3.4 Persiapan larutan uji

##### a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 1000 ppm)

Sejumlah 25 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a kocok hingga homogen.

##### b. Pembuatan larutan seri

Ekstrak n-heksan dibuat dengan konsentrasi 10, 25, 50, 100 dan 200 ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,05; 0,125; 0,25; 0,5 dan 1 ml kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 ml lalu homogenkan.

Ekstrak etil asetat dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 dan 0,05 ml kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 ml lalu homogenkan.

Ekstrak metanol dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 dan 0,05 ml kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 ml lalu homogenkan.

##### c. Pengujian

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

#### 3.4.3.5 Pembuatan Larutan Kuersetin sebagai Pembanding

##### a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 200 ppm)

Kuersetin ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a hingga homogen.

##### b. Pembuatan larutan seri (konsentrasi 1, 2, 4, 6 dan 8 ppm)

Dipipet masing-masing 0,025; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 mL lalu homogenkan.

### c. Pengujian

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

#### 3.4.3.6 Penghitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan persentase 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 persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan  $y = a + bx$  dengan perhitungan secara regresi linear dimana  $x$  adalah konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) dan  $y$  adalah persentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* (IC<sub>50</sub>) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari nilai  $x$  setelah mengganti  $y = 50$ . Untuk mendapatkan hasil yang maksimal dan lebih akurat maka pada tiap-tiap pengujian aktivitas antioksidan secara spektrofotometer dilakukan sebanyak 3 kali (*triplo*) dan dihitung nilai standar deviasi.

### 3.4.4 Penapisan Fitokimia

#### 3.4.4.1 Identifikasi Terpen (Farnsworth, 1966)

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambah 5 mL larutan eter ditambah asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (2:1). Warna merah hijau atau violet biru menunjukkan positif terpen.

#### 3.4.4.2 Identifikasi Alkaloid (Departemen Kesehatan, 1995)

0,5 g ekstrak kental dilarutkan dengan 10 ml campuran air suling dan HCL 2N (9:1), kemudian dipanaskan selama 2 menit. Selanjutnya disaring dan 1 mL

filtrat digunakan sebagai larutan percobaan yang selanjutnya dilakukan sebagai berikut :

- a. Ditambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan coklat sampai hitam.
- b. Ditambahkan 2 tetes Mayer LP. Hasil positif dengan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol.
- c. Ditambahkan 2 tetes Dragendorf LP. Hasil positif terbentuk endapan jingga coklat.

#### 3.4.4.3 Flavanoid (Departemen Kesehatan, 1995)

Larutan uji : 0,5 gram ekstrak ditambahkan 10 mL metanol dan 5 mL eter minyak tanah, dikocok dan didiamkan. Diambil lapisan metanol, diuapkan pada suhu 40° C. Sisa larutan ditambahkan 5 mL etil asetat P, disaring.

Percobaan :

- a. Dari larutan uji diambil 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dalam 1-2 mL etanol (95%) P, ditambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 mL asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terbentuk warna merah intensif menunjukkan adanya flavanoid (glikosida-3-flavonol).
- b. Larutan uji sebanyak 1 mL diuapkan, sisa dilarutkan dalam 1 mL etanol (95%) P, ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida P. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavanoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron.
- c. Diuapkan hingga kering 1 mL larutan uji, dibasahkan sisa dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk asam borat P dan serbuk asam oksalat P, dipanaskan. Sisa dicampur dengan 10 ml eter P. Diamati dibawah sinar UV 366 nm, jika larutan berfluoresensi kuning intensif menunjukkan adanya flavanoid.

#### 3.4.4.4 Antrakuinon (Departemen Kesehatan, 1995 dan Farnsworth, 1966)

Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dengan asam sulfat 2 N. Larutan dipanaskan sebentar kemudian didinginkan. Larutan ditambahkan 10 mL benzen P,



dikocok dan didiamkan. Lapisan benzen dipisahkan, lalu disaring. Filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya Antrakuinon. Kocok lapisan benzen dengan 1 – 2 mL natrium hidroksida 2 N, didiamkan, lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzen tidak berwarna.

#### 3.4.4.5 Saponin (Departemen Kesehatan, 1995)

Sebanyak 0,5 gram serbuk/ekstrak, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1 cm – 10 cm dan dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang.

#### 3.4.4.6 Identifikasi Glikosida (Departemen Kesehatan, 1995)

0,5 g ekstrak kental ditambahkan 15 mL HCl 10%. Selanjutnya direfluks selama 5 menit, didinginkan kemudian disaring. Filtrat dicuci dengan 10 mL eter dilakukan sebanyak 3 kali. Kemudian filtrat dikumpulkan dan diuapkan, ditambahkan natrium sulfat anhidrat, disaring dan diuapkan, ditambahkan 2 mL metanol P dan larutan ini digunakan sebagai larutan percobaan.

a. Larutan percobaan sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, sisanya ditambahkan 5 tetes asam asetat anhidrat P dan 10 tetes asam sulfat P terbentuk warna biru atau hijau hal ini menunjukkan adanya glikosida.

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

#### 3.4.4.7 Identifikasi Tanin (Farnsworth, 1966)

0,5 g ekstrak kental dilarutkan dalam 15 mL air panas kemudian dididihkan selama 5 menit. Filtrat disaring kemudian masing-masing 1 ml filtrat dikerjakan sebagai berikut :

a. Ditambahkan beberapa tetes  $FeCl_3$  1% dan diamati pembentukan warna biru hitam atau hitam kehijauan.

b. Ditambahkan beberapa tetes larutan gelatin 10% dan diperhatikan adanya endapan.

c. Ditambahkan larutan gelatin 1% yang mengandung 10% NaCl menimbulkan endapan (Trease & Evans, 1978).

#### 3.4.4.8 Identifikasi ekstrak secara kromatografi lapis tipis

Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling aktif selanjutnya diidentifikasi secara kromatografi lapis tipis untuk menegaskan adanya senyawa kimia yaitu flavonoid dimana senyawa ini dianggap mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Pengujian dengan cara ini dilakukan dengan menggunakan lempeng silika gel F<sub>254</sub> dengan eluen n-butanol: asam asetat glasial: air (4:1:5) serta menggunakan pereaksi penampak noda AlCl<sub>3</sub> 5%. Setelah disemprot dengan pereaksi dilanjutkan dengan pengamatan bercak menggunakan sinar ultraviolet 366 nm. Bercak yang nampak kemudian dihitung harga R<sub>f</sub> dengan rumus:

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

#### 3.4.5 Pemisahan Ekstrak Metanol Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. secara Kromatografi Kolom Dipercepat.

Diantara ketiga ekstrak yang diuji menunjukkan bahwa ekstrak metanol yang memiliki aktivitas antioksidan paling aktif berdasarkan uji pendahuluan menggunakan DPPH. Selanjutnya ekstrak metanol tersebut dipisahkan secara kromatografi kolom dipercepat. Ditimbang sebanyak 30 gram ekstrak metanol daun *Antidesma neurocarpum* Miq. kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol sesedikit mungkin, aduk hingga homogen kemudian ditambahkan silika gel sedikit sampai terbentuk serbuk kering. Setelah itu difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dipercepat dimana kolom yang digunakan memiliki ukuran panjang 19,5 cm dan dengan diameter 6,5 cm. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 sejumlah 110 gram. Silika gel 60 tersebut dituang ke dalam kolom lalu dipadatkan dengan bantuan vakum, kemudian permukaan silika gel diratakan.

Setelah padat maka silika gel diekuilibrasi dengan pelarut *n*-heksan sebanyak 200 ml selanjutnya dialiri dengan fase gerak yang akan digunakan.

Fase gerak yang digunakan adalah pelarut dengan tingkat kepolaran semakin meningkat, yaitu dengan perbandingan eluen *n*-heksan-etil asetat (100:0; 90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90; 0:100) dan perbandingan eluen etil asetat-metanol (90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90; 0:100). Masing-masing perbandingan pelarut yang digunakan sebanyak 200 ml dan eluat yang dihasilkan ditampung dalam botol lalu diuapkan. Fraksi yang diperoleh sebanyak 21 fraksi, selanjutnya masing-masing fraksi tersebut dilakukan pengujian KLT dengan menggunakan eluen *n*-heksan-etil asetat (7:3). Fraksi-fraksi yang memiliki pola kromatografi yang sama digabungkan, menjadi 6 fraksi gabungan. Masing-masing fraksi gabungan dilakukan uji aktivitas antioksidan sehingga didapatkan fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi yang kemudian fraksi teraktif tersebut dilakukan pengujian penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia.

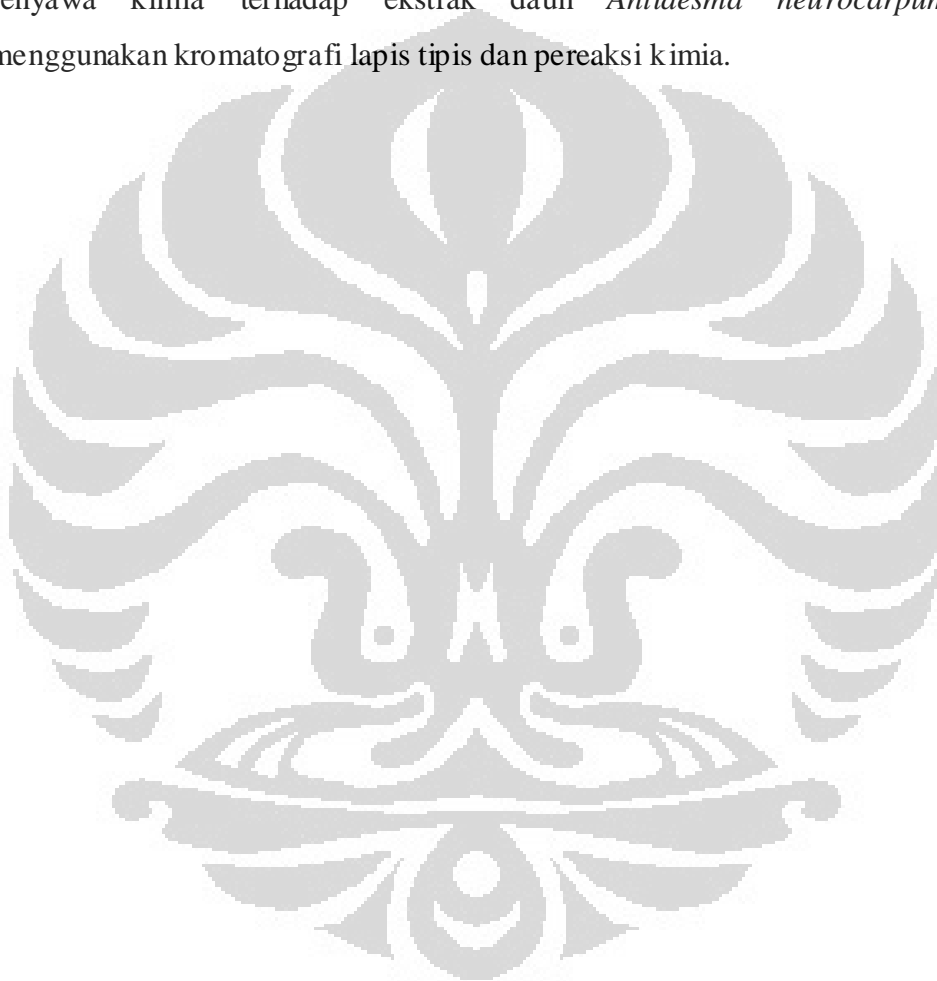
#### **3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Ekstrak Metanol Daun *Antidesma neurocarpum* Miq.**

Pada uji aktivitas fraksi hasil fraksinasi ekstrak metanol ini prosedur pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan sama dengan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak daun *Antidesma Neurocarpum* Miq. dimana dilakukan uji pendahuluan secara kualitatif kemudian dilanjutkan pengujian secara kuantitatif dengan metode DPPH menurut cara Blois menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Masing-masing fraksi ditimbang sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 ml kemudian ditambahkan metanol hingga garis batas, dikocok hingga homogen. Larutan induk yang dibuat memiliki konsentrasi 1000 ppm. Dari masing-masing larutan induk fraksi dibuat pengenceran dengan berbagai konsentrasi. Dari masing-masing larutan dengan berbagai konsentrasi tersebut diambil 1,0 ml larutan uji, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu ditambahkan 1,0 ml larutan DPPH 100 ppm dan metanol 2,0 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan *vorteks*, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37<sup>0</sup> C.

Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan sebanyak tiga kali (*triplo*) dan dihitung nilai  $IC_{50}$ . Sebagai pembanding digunakan kuersetin.

#### **3.4.8 Penapisan Fitokimia Fraksi Teraktif Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun *Antidesma neurocarpum* Miq.**

Identifikasi kandungan senyawa kimia terhadap fraksi teraktif ekstrak metanol dilakukan dengan prosedur yang sama pada identifikasi kandungan senyawa kimia terhadap ekstrak daun *Antidesma neurocarpum* Miq. menggunakan kromatografi lapis tipis dan pereaksi kimia.



## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Penyiapan Bahan**

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah *Antidesma neurocarpum* Miq. sedangkan bagian tanaman yang digunakan adalah daun. Daun kering diperoleh dari Kebun Raya Bogor pada bulan Desember 2011 dan telah dideterminasi di LIPI Kebun Raya Bogor. Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan bahwa bahan yang digunakan adalah benar daun *Antidesma neurocarpum* Miq. Gambar tanaman dan daun *Antidesma neurocarpum* Miq. dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2. Lampiran determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1.

Sebanyak 2,3 kilogram daun *Antidesma neurocarpum* Miq. kering yang selanjutnya dilakukan sortasi untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji, kemudian daun yang sudah disortir dihaluskan menggunakan blender untuk memperkecil ukuran simplisia. Bagan skema kerja dapat dilihat selengkapnya pada Gambar 4.18. dan Gambar 4.19.

#### **4.2. Ekstraksi Simplisia**

Metode ekstraksi simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya. Pelarut yang digunakan antara lain *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Sejumlah 2 kg serbuk kering daun *Antidesma neurocarpum* Miq. dimaserasi. Empat buah bejana maserasi masing-masing diisi dengan 500 mg serbuk daun *Antidesma neurocarpum* Miq. kemudian ditambahkan pelarut *n*-heksan yang telah didestilasi sebanyak 3 liter (jumlah pelarut yang digunakan diawal maserasi), serbuk yang sudah terendam pelarut dikocok selama 6 jam, kemudian didiamkan selama 18 jam. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum sampai didapat ekstrak kental tetapi masih bisa dituang ke dalam cawan penguap dan di uapkan di penangas air pada suhu lebih kurang 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksan.

Pengulangan remaserasi dilakukan sebanyak tujuh kali sampai filtrat mendekati tidak berwarna dengan total pelarut 7 liter. Langkah selanjutnya terhadap ampas n-heksan dikeringanginkan untuk memisahkan pelarut yang masih tertinggal di dalam ampas. Ampas yang sudah dikeringkan dilakukan maserasi kembali berturut-turut menggunakan pelarut etil asetat dan metanol dengan metode yang sama hingga mengalami 7 kali remaserasi. Masing-masing filtrat yang diperoleh tersebut diuapkan dengan penguap putar vakum lalu dilanjutkan diuapkan dalam penangas air hingga menjadi ekstrak kental etil asetat dan metanol. Setelah itu masing-masing ekstrak ditimbang dan dihitung % rendemen menggunakan rumus:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \quad (4.1)$$

Nilai % rendemen yang didapat dari ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol yaitu 3,7%, 7,3% dan 10,75%. Data dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Bobot ekstrak kental dan nilai % rendemen

No.	Pelarut	Bagian yang digunakan	Bobot simplisia yang diekstraksi (gram)	Bobot ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
1.	n-heksan	daun	2000	74	3,7
2.	etil asetat	daun	2000	146	7,3
3.	metanol	daun	2000	215	10,75

#### 4.3. Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun *Antidesma neurocarpum* Miq.

Pada masing-masing ekstrak yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol dilakukan uji identifikasi golongan senyawa kimia menggunakan pereaksi kimia. Hasil uji identifikasi pertama adalah senyawa terpen. Untuk ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol menunjukkan reaksi positif terhadap penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat yaitu berupa pembentukan warna hijau kehitaman.

Hasil uji identifikasi senyawa alkaloid, masing-masing ekstrak terlebih dahulu dilarutkan dalam asam klorida dan air suling hal ini bertujuan supaya senyawa alkaloid yang bersifat basa dapat berikatan dengan asam membentuk

garam yang larut dalam air suling (Sirait,2007), kemudian pada masing-masing ekstrak ditambahkan pereaksi Mayer, Dragendorf dan Bouchardat. Dari ketiga ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol memberikan reaksi negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan.

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan penambahan serbuk zink dan magnesium, hasil yang menunjukkan reaksi positif adalah ekstrak metanol. Ditandai dengan terbentuknya warna merah intensif dengan penambahan serbuk zink dan asam klorida pekat serta adanya warna merah jingga terhadap penambahan serbuk magnesium dan asam klorida pekat ke dalam ekstrak tersebut. Pada ekstrak metanol selanjutnya dilakukan pengujian dengan KLT menggunakan lempeng silika gel F<sub>254</sub> untuk memastikan bahwa ekstrak metanol mengandung senyawa antioksidan yaitu flavonoid. Ekstrak metanol ditimbang 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas labu lalu dihomogenkan. Larutan uji ditotolkan pada lempeng KLT kemudian ditunggu beberapa saat hingga totolan kering. Setelah itu di elusi menggunakan eluen n-butanol-asam asetat glasial-air dengan perbandingan (4:1:5), kemudian setelah di elusi maka lempeng disemprot dengan pereaksi AlCl<sub>3</sub> 5% dan diperoleh hasil yaitu dengan jarak tempuh fase gerak 7,5 cm terlihat 5 bercak yang ditimbulkan dibawah sinar uv pada panjang gelombang 366 nm. Nilai Rf dari kelima bercak tersebut adalah 0,4; 0,46; 0,53; 0,73 dan 0,76. Gambar dapat dilihat pada gambar 4.8. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan adanya bercak yang berfluorosensi hijau kekuningan yang diamati dengan sinar ultraviolet 366 nm (Harborne, 1987).

Pengujian senyawa antrakuinon, terlebih dahulu dilakukan proses hidrolisis menggunakan asam sulfat yang disertai dengan pemanasan dimana bertujuan untuk memutus ikatan antara aglikon (antrakuinon) dan glikon (gula). Ketiga ekstrak yang diuji memberikan reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya warna kuning pada lapisan benzen dan tidak terbentuknya warna merah pada lapisan air serta lapisan benzen yang tidak berwarna setelah ditambah NaOH.

Hasil uji identifikasi senyawa saponin, hanya ekstrak metanol saja yang menunjukkan hasil reaksi positif dengan adanya pengocokkan ekstrak dalam air

panas yang ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 2,5 cm selama tidak kurang 10 menit dan dengan ditetesi HCl 2N busa yang terbentuk tidak hilang.

Pengujian senyawa glikosida, terlebih dahulu dilakukan proses hidrolisis menggunakan asam klorida yang disertai dengan pemanasan dimana bertujuan untuk memutus ikatan antara aglikon (antrakuinon) dan glikon (gula). Ketiga ekstrak yang diuji hanya ekstrak metanol yang memberikan hasil positif yaitu ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hijau, hal ini menunjukkan adanya glikosida. Selanjutnya dengan penambahan pereaksi molish, ekstrak metanol juga memberikan reaksi positif dengan terbentuknya cincin ungu, hal ini menunjukkan adanya ikatan gula.

Hasil uji identifikasi tanin, ekstrak etil asetat dan metanol menunjukkan reaksi positif mengandung tanin yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah ditambah dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , selanjutnya pada saat direaksikan dengan larutan gelatin 10% dan larutan gelatin-NaCl terbentuk endapan putih. Hal ini terjadi karena tanin bereaksi dengan protein yang membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air (Harborne, 1987). Hasil identifikasi masing-masing ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil identifikasi golongan senyawa pada ekstrak daun *Antidesma neurocarpum* Miq.

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Ekstrak n-heksan	Ekstrak etil asetat	Ekstrak metanol
Terpen	Liebermann-Burchard	+	+	+
Alkaloid	Mayer LP	-	-	-
	Dragendorf LP	-	-	-
	Bouchardat LP	-	-	-
Flavonoid	Serbuk Zn+HCl 2N+HCl pekat (P)	-	-	+
	Serbuk Mg+HCl pekat (P)	-	-	+
	Serbuk asam borat+serbuk asam oksalat	-	-	+



Antrakuinon	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N + Benzen (P) + NH <sub>4</sub> OH (LP)	-	-	-
Saponin	Air panas	-	-	+
Glikosida	Molish (LP)	-	-	+
	As.asetat anhidrat P + As. Sulfat P	-	-	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	-	+	+
	Lar.gelatin 10%	-	+	+
	NaCl-gelatin	-	+	+

#### 4.4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. dengan Metode DPPH

Untuk pengujian ini, masing-masing ekstrak kental dari daun *Antidesma neurocarpum* Miq. yaitu ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menurut Blois. Metode ini dipilih karena mudah, murah, paling umum digunakan secara *in vitro*, sederhana, cepat selain itu metode ini memerlukan sampel dalam jumlah yang tidak terlalu banyak dan tidak membutuhkan banyak reagen (Ozcelik, Lee & Min, 2003). Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

Tahap awal pengujian dilakukan uji pendahuluan dimana masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi sebelumnya sebanyak 10,0 ml dan sebagai pembanding digunakan kuersetin. Larutan uji sampel dibuat dengan konsentrasi yang sama yaitu 1000 ppm. Setelah itu masing-masing larutan ditotolkan pada kertas kromatogram dengan menggunakan pipet kapiler. Ketika totolan sudah kering, kertas kromatogram disemprot dengan larutan DPPH 100 ppm, lalu kertas saring dibiarkan beberapa menit dan diamati perubahan warna yang muncul pada kertas tersebut. Terbentuknya warna kuning atau putih dengan latar belakang ungu menunjukkan adanya komponen aktif yang menghambat radikal bebas DPPH. Dari hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan diperoleh hasil bahwa ketiga ekstrak tersebut memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Langkah selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH secara kuantitatif menggunakan alat spektrofotometer. Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh senyawa antioksidan dari ekstrak yang diuji. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat diukur (Juniarti, Delvi, O., dan Yuhernita, 2009). Optimasi panjang gelombang DPPH didapatkan panjang gelombang maksimum sebesar 517 nm, dapat dilihat pada Gambar 4.5. Oleh sebab itu serapan ketiga ekstrak diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Masing-masing ekstrak daun *Antidesma neurocarpum* Miq. ditimbang 25 mg dan dimasukkan ke dalam labu takar 25,0 ml kemudian ditambahkan metanol hingga mencapai garis batas labu ukur, dikocok hingga homogen. Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk tersebut tiap ekstrak dilakukan pengenceran dengan konsentrasi yang berbeda-beda supaya tercapai serapan yang berada pada range 0,2-0,8. Uji aktivitas antioksidan ini dilakukan pengujian sebanyak tiga kali (*triplo*) pada masing-masing bahan uji yang bertujuan supaya peneliti memperoleh data yang maksimal. Untuk ekstrak *n*-heksan dipipet larutan induk sampel sebanyak 0,05; 0,125; 0,25; 0,5 dan 1 ml kemudian masing-masing larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 ml lalu homogenkan. Larutan seri ekstrak *n*-heksan dibuat dengan konsentrasi 10, 25, 50, 100 dan 200 ppm. Ekstrak etil asetat dan metanol dipipet larutan induk sampel sebanyak 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 dan 0,05 ml kemudian masing-masing larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5,0 ml lalu homogenkan. Larutan seri ekstrak etil asetat dan metanol dibuat konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Sedangkan kuersetin sebagai pembanding ditimbang sebanyak 5 mg lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas pada labu ukur kemudian dihomogenkan. Larutan induk kuersetin dibuat konsentrasi 200 ppm. Selanjutnya larutan induk dibuat pengenceran dengan memipet masing-masing 0,025; 0,05; 0,1; 0,15 dan 0,2 ml kemudian masing-masing larutan dimasukkan ke

dalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5,0 ml lalu homogenkan. Setelah semua larutan uji dipersiapkan selanjutnya dari masing-masing larutan dengan berbagai konsentrasi tersebut diambil 1,0 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan masing-masing tabung ditambahkan 1,0 ml larutan DPPH 100 ppm dan metanol 2,0 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan *vorteks*, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37<sup>0</sup> C. Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan sebanyak tiga kali (*triplo*) dan dihitung nilai IC<sub>50</sub>. Semakin besar konsentrasi sampel maka semakin banyak elektron yang didonorkan untuk meredam radikal bebas yaitu DPPH, sehingga serapan yang diberikan pun semakin menurun tergantung dengan jumlah elektron yang diambil. Setelah data serapan bahan uji didapat selanjutnya dilakukan pengolahan data dengan menggunakan perhitungan rata-rata dan standar deviasi pada masing-masing konsentrasi bahan uji. Serapan yang dihasilkan masing-masing bahan uji dihitung rata-rata dan standar deviasinya. Nilai standar deviasi yang dihasilkan kecil artinya data yang dihasilkan dari percobaan ini memiliki tingkat kesalahan yang kecil juga. Kurva hubungan konsentrasi masing-masing ekstrak dan kuersetin dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.13. sampai 4.16.

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration* 50% (IC<sub>50</sub>) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel.

Hasil uji aktivitas antioksidan ketiga ekstrak menunjukkan hasil bahwa semua ekstrak baik n-heksan, etil asetat dan metanol dari daun *Antidesma neurocarpum* Miq. memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut yaitu 41,15, 2,27 dan 2,18 ppm. Sedangkan untuk pembanding yaitu kuersetin memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 1,40 ppm. Ekstrak metanol memiliki nilai IC<sub>50</sub> paling kecil artinya ekstrak metanol tersebut memiliki aktivitas antioksidan paling kuat sehingga untuk tahap pengujian selanjutnya ekstrak metanol dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom dipercepat. Data hasil nilai IC<sub>50</sub> dan standar deviasi ekstrak daun *Antidesma neurocarpum* Miq. dan kuersetin dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Data hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *Antidesma neurocarpum* Miq.

Sampel	Kons. Uji (µg/ml)	Serapan sampel (rata-rata)	Standar Deviasi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)
Kuersetin	1	0,4576	0,0007	17,93	1,40
	2	0,3961	0,0011	28,96	
	4	0,3349	0,0061	39,93	
	6	0,2577	0,0070	53,78	
	8	0,2011	0,0047	63,93	
Ekstrak n-heksan	10	0,5142	0,0138	7,78	41,15
	25	0,4726	0,0151	15,24	
	50	0,3908	0,0074	20,91	
	100	0,3348	0,0077	39,95	
	200	0,245	0,0113	56,06	
Ekstrak etil asetat	2	0,5116	0,0114	8,24	2,27
	4	0,46	0,0075	17,5	
	6	0,3914	0,0044	29,8	
	8	0,3181	0,0085	42,34	
	10	0,2385	0,0058	57,22	
Ekstrak metanol	2	0,498	0,0048	10,91	2,18
	4	0,4422	0,0132	20,89	
	6	0,3693	0,0082	33,93	
	8	0,3069	0,0097	45,09	
	10	0,2335	0,0085	58,22	
Blanko = 0,5576					

#### 4.5. Pemisahan Ekstrak Metanol Daun *Antidesma neurocarpum* Miq. secara Kromatografi Kolom Dipercepat

Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat adalah ekstrak metanol dengan nilai IC<sub>50</sub> 2,18 ppm dimana langkah selanjutnya akan dilakukan pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom dipercepat.

Ekstrak metanol daun *Antidesma neurocarpum* Miq. ditimbang sebanyak 30 g, kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol sesedikit mungkin, aduk hingga homogen kemudian ditambahkan silika gel sedikit sampai terbentuk serbuk kering. Setelah itu difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dipercepat dimana kolom yang digunakan memiliki ukuran panjang 19,5 cm dan dengan diameter 6,5 cm. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 sejumlah

110 gram. Silika gel 60 tersebut dituang ke dalam kolom lalu dipadatkan dengan bantuan vakum, kemudian permukaan silika gel diratakan. Setelah padat maka silika gel diekuilibrasikan dengan pelarut *n*-heksan sebanyak 200 ml selanjutnya dialiri dengan fase gerak yang akan digunakan.

Fase gerak yang digunakan adalah pelarut dengan tingkat kepolaran semakin meningkat, yaitu dengan perbandingan eluen *n*-heksan-etil asetat (100:0; 90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90; 0:100) dan perbandingan eluen etil asetat-metanol (90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90; 0:100). Masing-masing perbandingan pelarut yang digunakan sebanyak 200 ml dan eluat yang dihasilkan ditampung dalam botol lalu diuapkan. Fraksi yang diperoleh sebanyak 21 fraksi, selanjutnya masing-masing fraksi tersebut dilakukan pengujian KLT dengan menggunakan eluen *n*-heksan-etil asetat (7:3). Fraksi-fraksi yang memiliki pola kromatografi yang sama digabungkan menjadi 6 fraksi gabungan. Fraksi 1-4 digabung menjadi fraksi A dengan berat sampel 54,8 mg. Fraksi 5 menjadi fraksi B dengan bobot 55,3 mg. Fraksi 6-8 digabung menjadi fraksi C. Fraksi 9-12 digabung menjadi fraksi D dengan berat sampel 1.199 mg. Fraksi 13-18 digabung jadi fraksi E dengan berat sampel 1.800 mg dan fraksi 19-21 digabung menjadi fraksi F dengan berat sampel 762,5 mg. Data dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil fraksinasi ekstrak metanol *Antidesma neurocarpum* Miq. dengan kromatografi kolom dipercepat dan penggabungan fraksi.

Fase Gerak	Fraksi ke-	Fraksi Hasil Penggabungan
Heksan 100%	1	A (54,8 mg)
Heksan-etil asetat (90:10)	2	
Heksan-etil asetat (80:20)	3	
Heksan-etil asetat (70:30)	4	
Heksan-etil asetat (60:40)	5	B (55,3 mg)
Heksan-etil asetat (50:50)	6	C (105,5 mg)
Heksan-etil asetat (40:60)	7	
Heksan-etil asetat (30:70)	8	
Heksan-etil asetat (20:80)	9	D (1199 mg)
Heksan-etil asetat (10:90)	10	
Etil asetat 100%	11	
Etil asetat-metanol (90:10)	12	

Etil asetat-metanol (80:20)	13	
Etil asetat-metanol (70:30)	14	
Etil asetat-metanol (60:40)	15	
Etil asetat-metanol (50:50)	16	E
Etil asetat-metanol (40:60)	17	(1800 mg)
Etil asetat-metanol (30:70)	18	
Etil asetat-metanol (20:80)	19	F
Etil asetat-metanol (10:90)	20	(762,5 mg)
Metanol 100%	21	

Selanjutnya masing-masing fraksi gabungan dilakukan uji aktivitas antioksidan sehingga didapatkan fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi yang kemudian fraksi teraktif tersebut dilakukan pengujian penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia.

#### **4.6. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi-Fraksi Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol**

Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan fraksi-fraksi dilakukan dengan menimbang masing-masing fraksi sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Konsentrasi larutan fraksi dibuat sebesar 1000 ppm. Selanjutnya masing-masing larutan fraksi ditotolkan pada kertas kromatogram menggunakan pipet kapiler. Setelah totolan kering, kertas kromatogram disemprot dengan larutan DPPH 100 ppm maka akan terjadi perubahan warna pada kertas saring. Apabila menunjukkan hasil yang positif akan muncul bercak berupa zona kuning dengan latar belakang ungu. Dari keenam fraksi yang diuji semua menunjukkan adanya aktivitas antioksidan, data selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.7.

Langkah selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer dimana pada masing-masing fraksi dibuat larutan induk 1000 ppm dan dilakukan pengenceran dengan berbagai konsentrasi. Untuk larutan induk fraksi A dan B masing-masing di pipet 0,05; 0,1; 0,2; 0,4 dan 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol sampai tanda batas pada labu ukur, kemudian dihomogenkan. Larutan seri fraksi A dan B dibuat konsentrasi 10, 20, 40, 80 dan 100 ppm. Fraksi C dibuat pengenceran dengan memipet 0,025; 0,05; 0,1; 0,2 dan 0,4 ml lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol sampai tanda

batas pada labu ukur, kemudian dihomogenkan. Larutan seri fraksi C dibuat konsentrasi 5, 10, 20, 40 dan 80 ppm. Fraksi D dan F dibuat pengenceran dengan memipet masing-masing larutan induk sebanyak 0,02; 0,03; 0,035; 0,04 dan 0,05 ml lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol sampai tanda batas pada labu ukur, kemudian dihomogenkan. Larutan fraksi D dan F dibuat konsentrasi 4, 6, 7, 8, dan 10 ppm. Fraksi E dibuat pengenceran dengan memipet larutan induk sebanyak 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 dan 0,05 ml lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol sampai tanda batas pada labu ukur, kemudian dihomogenkan, dibuat konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan uji pada masing-masing fraksi dipipet sebanyak 1,0 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan larutan DPPH 100 ppm sebanyak 1,0 ml dan 2,0 pelarut metanol kemudian dihomogenkan menggunakan *vorteks*. Selanjutnya masing-masing tabung diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dimana terlebih dahulu dilakukan optimasi panjang gelombang larutan DPPH 100 ppm yang menunjukkan panjang gelombang maksimum 517 nm. Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan sebanyak tiga kali (*triplo*) dan dihitung nilai  $\text{IC}_{50}$ . Setelah data serapan bahan uji didapat selanjutnya dilakukan pengolahan data dengan menggunakan perhitungan rata-rata dan standar deviasi pada masing-masing konsentrasi bahan uji. Nilai standar deviasi keenam fraksi menunjukkan nilai kecil artinya tingkat kesalahan dalam pengerjaan percobaan ini kecil. Kurva hubungan konsentrasi fraksi teraktif dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.17.

Hasil uji aktivitas antioksidan pada masing-masing fraksi yaitu fraksi A dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  24,24 ppm; fraksi B dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  21,71 ppm; fraksi C nilai  $\text{IC}_{50}$  15,94 ppm; fraksi D nilai  $\text{IC}_{50}$  2,41 ppm dan fraksi E dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  2,03 ppm serta fraksi F nilai  $\text{IC}_{50}$  2,57 ppm. Dari keenam fraksi tersebut diatas yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat adalah fraksi E dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  2,03 ppm. Hasil  $\text{IC}_{50}$  dan nilai standar deviasi masing-masing fraksi dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Data hasil uji aktivitas antioksidan fraksi gabungan dari ekstrak metanol daun *Antidesma neurocarpum* Miq.

Sampel	Kons. Uji ( $\mu\text{g/ml}$ )	Serapan sampel (rata-rata)	Standar Deviasi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)
Fraksi A	10	0,5053	0,0111	9,6	24,24
	20	0,4685	0,0071	16,18	
	40	0,4307	0,0060	22,95	
	80	0,3187	0,0030	42	
	100	0,2697	0,0036	51,75	
Fraksi B	10	0,5195	0,0123	7,06	21,71
	20	0,458	0,0054	18,06	
	40	0,3692	0,0075	33,95	
	80	0,3086	0,0052	44,79	
	100	0,2488	0,0056	55,49	
Fraksi C	5	0,5311	0,0062	4,99	15,94
	10	0,516	0,0013	7,69	
	20	0,4798	0,0079	14,16	
	40	0,3783	0,0072	32,32	
	80	0,209	0,0049	62,61	
Fraksi D	4	0,5393	0,0049	3,52	2,41
	6	0,491	0,0070	12,16	
	7	0,4384	0,0069	21,57	
	8	0,372	0,0087	33,45	
	10	0,2393	0,0074	57,19	
Fraksi E	2	0,4865	0,0050	12,75	2,03
	4	0,4328	0,0055	22,38	
	6	0,3483	0,0043	37,53	
	8	0,2922	0,0093	47,59	
	10	0,2085	0,0066	62,6	
Fraksi F	4	0,5084	0,0056	9,05	2,57
	6	0,4914	0,0070	12,09	
	7	0,4266	0,0029	23,68	
	8	0,3765	0,0088	32,64	
	10	0,2725	0,0058	51,25	
Blanko = 0,5590					

#### 4.7. Penapisan Fitokimia Fraksi Teraktif ( Fraksi E)

Fraksi teraktif hasil pemisahan ekstrak metanol secara kromatografi kolom dipercepat adalah fraksi E yang kemudian dilakukan pengujian penapisan fitokimia menggunakan pereaksi kimia dan kromatografi lapis tipis. Dari hasil pengujian dengan pereaksi kimia diperoleh hasil bahwa fraksi E mengandung

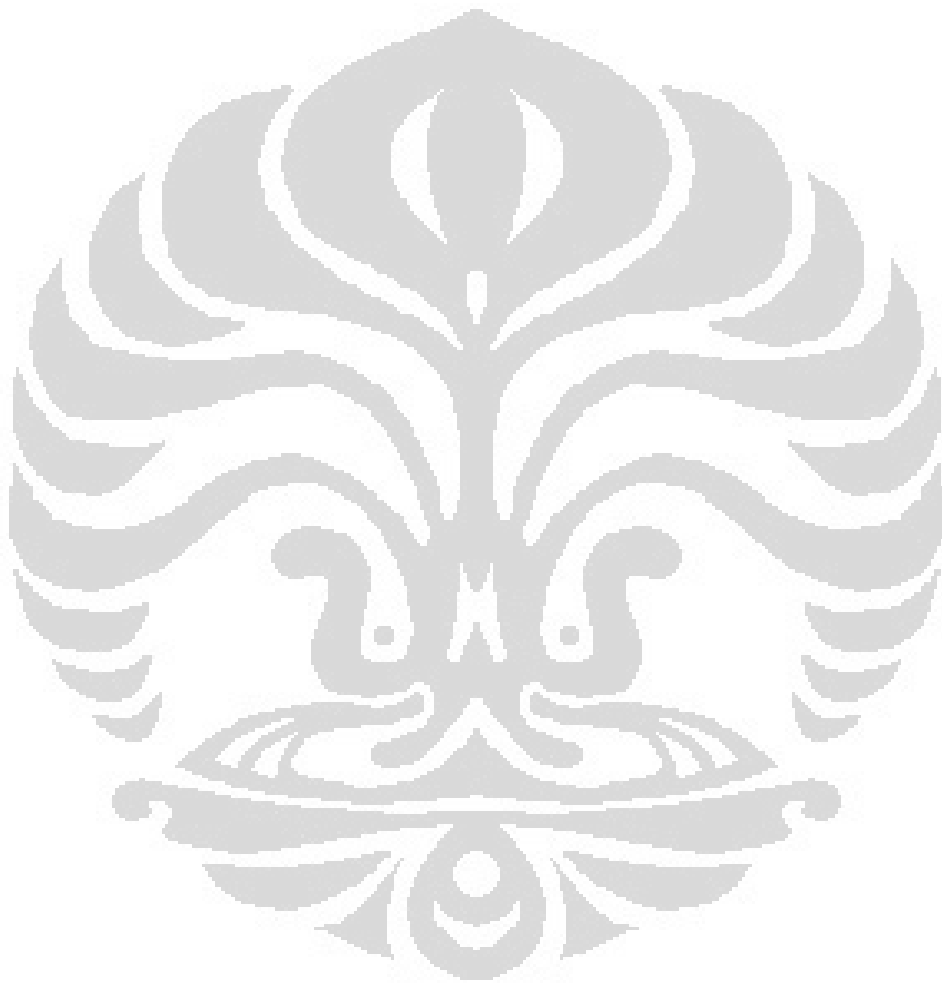


senyawa kimia terpen, flavonoid, saponin, glikosida dan tanin. Hasil dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil identifikasi golongan senyawa pada fraksi teraktif (fraksi E) dari ekstrak metanol.

Kandungan Kimia	Pereaksi Kimia	Fraksi E
Terpen	Liebermann-Burchard	+
Alkaloid	Mayer LP Dragendorf LP Bouchardat LP	- - -
Flavonoid	Serbuk Zn+HCl 2N+HCl pekat (P)	+
	Serbuk Mg+HCl pekat (P)	+
	Serbuk asam borat+serbuk asam oksalat	+
Antrakuinon	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N + Benzen (P) + NH <sub>4</sub> OH (LP)	-
Saponin	Air panas	+
Glikosida	Molish (LP)	+
	As.asetat anhidrat P + As. Sulfat P	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	+
	Lar.gelatin 10%	+
	NaCl-gelatin	+

Selanjutnya untuk menegaskan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi E maka dilakukan identifikasi menggunakan KLT dimana menggunakan fase diam silika gel F<sub>254</sub> dan fase gerak n-butanol-asam asetat glasial-air (4:5:1). Fraksi E setelah dielusi dan disemprot dengan pereaksi AlCl<sub>3</sub> 5% kemudian dilakukan pengamatan terhadap lempeng di bawah lampu ultra violet pada panjang gelombang 366 nm menunjukkan adanya 1 bercak yang memiliki aktivitas antioksidan ditandai dengan fluoresensi warna hijau kekuningan pada bercak. Nilai R<sub>f</sub> dari bercak berwarna adalah sebesar 0,48. Gambar dapat dilihat pada 4.9. sampai 4.12.



## DAFTAR REFERENSI

- Alembert T. T., Ayele .T., Ermias. D., Norbert. A .,and Ludger A. (2005) *Short Communication Squalene and Amentoflavone from Antidesma Lacinatum*. Department of Bioorganic Chemistry, Weinberg 3.: Germany.
- Buske.A., Schmidt.J., Porzel.A., and Adam.G. (2009). *Benzopyranones and Ferulic Acid Derivattives From Antidesma Membranaceum*. Institute of Plant Biochemistry, Weinberg 3, D-06120 Halle/S, Germany.
- Blois, MS. (1958). Antioxidant Determinations By The Use of A Stable Free Radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- 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.
- Chen, Y.C, (2004). Coumaro Lignans from the Root of Formosan *Antidesma pentandrum* vas. *Barbatum*, *Helvetica Chimica Acta*. 87(11).
- Dalimartha, S. Dan Soediby, M. (1999). Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen. Jakarta: Trubus Agriwidya, 36-40.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia edisi III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 772-773.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: X, 333-337.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 7,1002, 1061-1075.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 9-12.
- Elya, B., Basah, K., Mun'im, A., Yuliasuti, W., Bangun, A., and Septiana, E. K., (2012). Screening of alpha Glucosidase Inhibitory Activity from Some Plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae and Rubiaceae. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Vol.2012.
- Fransworth, Norman.R. (1966). *Biological and Phytochemical Screening of Plants*. *Journal of Pharmaceutical Science* Vol.55 No.3
- Gandjar. I.B, Rohman, A, (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

- Gordon, M.H., (1990). *The mechanism of Antioxidant action in vitro*. Dalam: B.J.F Hudson (ed), *Food Antioxidans*, Elsevier Applied Science. London. 1-18.
- Gritter, R, J., J. M. Bobbits, and A. E. Schwarting, 1987. *Introduction to Chromatography (Pengantar Kromatografi)*, Edisi ke-2 (Padmawinata, K., Penerjemah). Bandung: Penerbit ITB
- Gritter, R, J., J. M. Bobbits, and Arthur, E. S., (1991). *Pengantar Kromatografi*. Penerbit ITB. Bandung.
- Halliwell, B., J.M.C. Gutteridge, dan C.E. Cros. (1992). 'Free Radicals, Antioxidant and Human Disease: Where are We Now?' dalam: *Journal of Laboratory Clinical Medicine*. 119(6): 598-620.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode fitokimia, penuntun cara modern mengekstraksi tumbuhan* (Padmawinata, K., Penerjemah). Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita. (2006). *Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Hoffman, P. (2006). *Antidesma in Malesia and Thailand*. England: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Indonesian Institute of Science National Biological. (1985). *An Alphabetic list of Plant Spesies Cultivated in the Hortus Bitanicus Bogoriensis*. Bogor: Indonesian Institute of Science National Biological, 19.
- 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.
- Julius T.M., Damme.P.V. (2001). *Why do Euphorbiaceae ticks as medicinal pants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features*. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(5), pp. 652-662.
- Jonesh, S.B., dan Luchinger, A.E. (1987). *Plant Systematic 2nd ed*. New York: MC Graw Hill, 477, 480.
- Joseph, G.S., Jayaprakasha, Selvi A.T., Jena B.S., Sakariah K.K (2005). Antiaflatoxic and antioxidant activities of Antidesma extract. *International Journal of Food Microbiology*, 8: 153-160
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., and Taniguchi, H., Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound, *J. Agric. Food Chem*, (2002), 50:2161-2168.

Koleva, I.I.; van Beek, T.A.; Linssen, J.P.H.; de Groot, A.; Evstatieva, L.N.. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem. Analysis*. 2001, 13, 8–17.

Leong L. P., Shul, G., (2002). An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *Food Chemistry* 76:69-75.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., 1982. Brine Shrimp: a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Med. Planters*. 45(31-34).

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanarin J. Sci. Technol*, 26 (2), 211-219.

Mun'im, A., Azizahwati, Trastiana., (2008). Aktivitas Antioksidan Cendawan Suku Pleurotaceae dan Polyporaceae dari Hutan UI. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1), 36-41

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.

Packer, L.M., Hiramatsu, T. And Yoshikawa. (1999). *Antioxidant Food Supplement in Human Health*, Academic Press

Pakalawong, C., Sophanodora, P., Pisuchpen, S. And Phongpaichit, S. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts from mangosteen parts and some essential oils. *International Food Research Journal* 17: 583-58

Percival, M., (1998)., Antioxidants. *Nut* 031, 1/96 Rev. 10/98. Structure Activity Relationship of Coumarin Derivatives on Xanthine Oxidase Inhibiting and Free Radical Scavenging Activities. *Biochemical Pharmacology*, 75 : 1416-1425.

Pietta, P.G., (1999). Flavonoids as Antioxidant, *Reviews, J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042.

Prakash, A., (2001). Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*, Vol.19(2).

Pokorni, (2001). Antioxidant in Food; Practical applications, CRS Press, New York.

Razibul, H., (2011). *Antioxidant Capacity and Antibacterial Potentiality of Methanol Extract of Antidesma ghasembilla* Gaertn. Bangladesh: Departement of Pharmacy International Islamic University.

Rizvi, S.H., Shoeb, A., Kapil, R.S and Popli, S.P, (2005). Antidesma – a new pentacyclic triterpenoid from *Antidesma menasu* Miq. ex. Tul. *Journal of Cellular and Molecular Life Science*.

Rohman, A. (2009). *Kromatografi untuk Analisis Obat*. Yogyakarta : Penerbit Graha Ilmu

Shivappasad, H. N., S. Mohan, M.D. Kharya, M.R. Shiradkar, & K. Lakhsman. (2005). *In vitro models for antioxidant activity evaluation: A review*. 5 Desember 2009.

Sirait, M. (2007). *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung : ITB

Stahl, E., (1969). *Apparatus and General techiques in TLC*. Dalam: Stahl, E.(ed). *Thin Layer Chromatography a laboratory handbook*. Terj dari Dunnschichth chromatography, oleh Ashworth, M.r.F. Berlin-Verlag, 61-77

Suhartono, E., Fujiati, Aflanie, I. (2002). *Oxygen toxicity by radiation and effect of glutamic piruvat transamine (GPT) activity rat plasma after vitamine C treatmen*. Diajukan pada Internatinal seminar on Environmental Chemistry and Toxicology, Yogyakarta.

Takashi Miyake and Takayumi Shibamoto., (1997). Antioxidant activity of natural compound found in plant. *Journal Agric. Food. Chemi.* 45, 1819-1822

Touchtone, J.C., M.F. Dobbins., (1983). *Practice of thin layer cromatography*. Canada : John Wiley & Sons,2-12

Trease, G.E dan Evans, W.C. (1978). *Pharmacognosy 11th Edition*. London: Bailliere Tindal.

Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi ke-5*. Yogyakarta: UGM.

Wahyuningsih, M.S.H., Wahyuono, S., Santosa, D., Setiadi, J., Soekotjo, Widiastuti, S.S, Rakhmawati, R., & Wahyuni, D.S.C.. (2008). Eksplorasi tumbuhan dari hutan kalimantan tengah sebagai sumber senyawa bioaktif. *Biodiversitas* 9, 169-172.

Wijaya, A., (1997). Oksidasi LDL, Aterosklerosis dan Antioksidan, *Medika* 3, hal: 1-15.

Winarsi, H, (2007). Radikal bebas dan Antioksidan dalam Antioksidan Alami dan Radikal bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta. 5-11.



Gambar 4.1. Tanaman *Antidesma neurocarpum* Miq.



Gambar 4.2. Daun *Antidesma neurocarpum* Miq.



Gambar 4.3. Penguap putar vakum (Rotary evaporator)



Gambar 4.4. Spektrofotometer UV-Vis



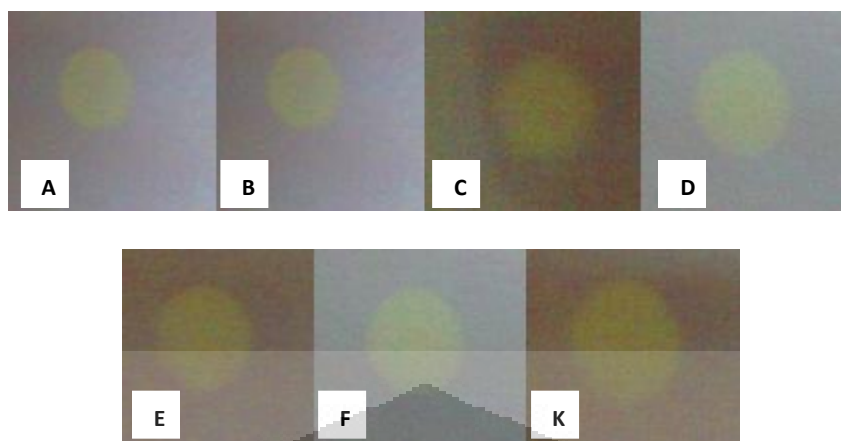


Gambar 4.5. Spektrum larutan DPPH 100  $\mu\text{g/ml}$  dalam metanol pada panjang gelombang optimum (517 nm)



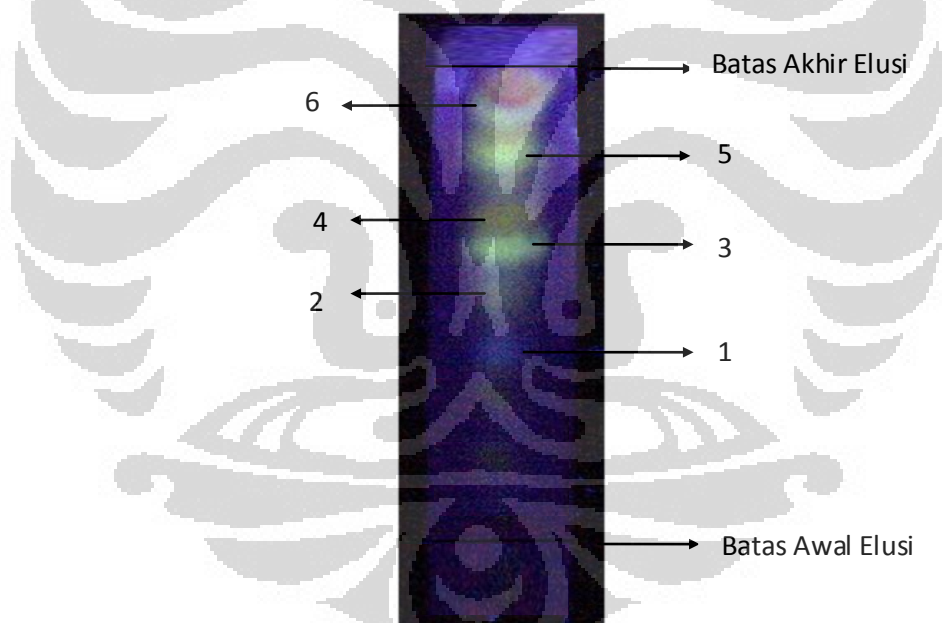
Keterangan: H. ekstrak n-heksan; E. ekstrak etil asetat; M. ekstrak metanol; K. Standar kuersetin

Gambar 4.6. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun *Antidesma neurocarpum* Miq.



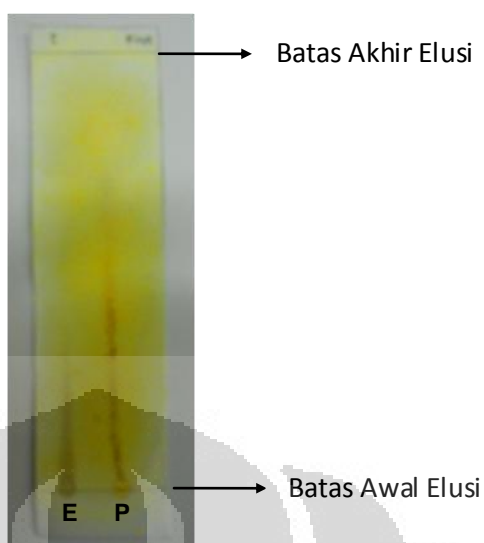
Keterangan: K. standar kuersetin; A-F. Fraksi A sampai F

Gambar 4.7. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan 6 fraksi dari ekstrak metanol



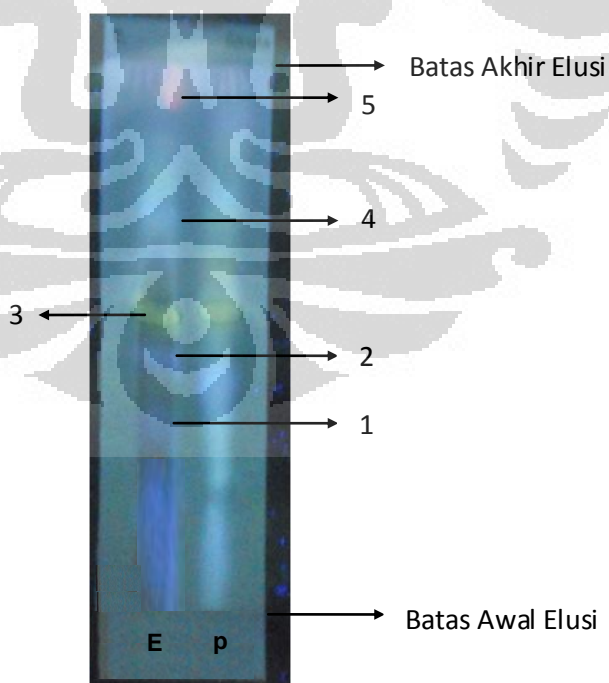
Keterangan: 1.  $R_f = 0,28$ ; 2.  $R_f = 0,4$ ; 3.  $R_f = 0,46$ ; 4.  $R_f = 0,53$ ; 5.  $R_f = 0,73$ ; 6.  $R_f = 0,76$ ;

Gambar 4.8. Profil KLT ekstrak metanol setelah disemprot dengan larutan  $AlCl_3$  5%, dengan eluen n-butanol:asam asetat glasial:aquadest (4:1:5) menunjukkan 5 bercak yang memiliki aktivitas Antioksidan.



Keterangan: E. Fraksi E ; P. pembanding Piperin

Gambar 4.9. Profil KLT uji alkaloid fraksi E, dengan eluen n-butanol:asam asetat glasial: aquadest (4:1:5), dengan penyemprot Dragendorff menunjukkan hasil negatif (tidak berwarna jingga)



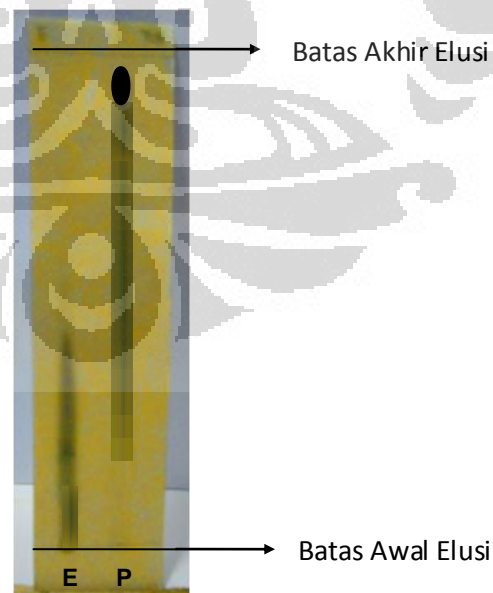
Keterangan: E. Fraksi E, 5 bercak dengan Rf 0,21; 0,33; 0,48; 0,53 dan 0,81; P. pembanding Kuersetin

Gambar 4.10. Profil KLT uji flavonoid fraksi E, dengan eluen butanol-asam asetat glasial-aquades (4:1:5), dengan penyemprot  $AlCl_3$  5% menunjukkan hasil positif dengan 1 bercak (fluorosensi kuning pada panjang gelombang 366 nm)



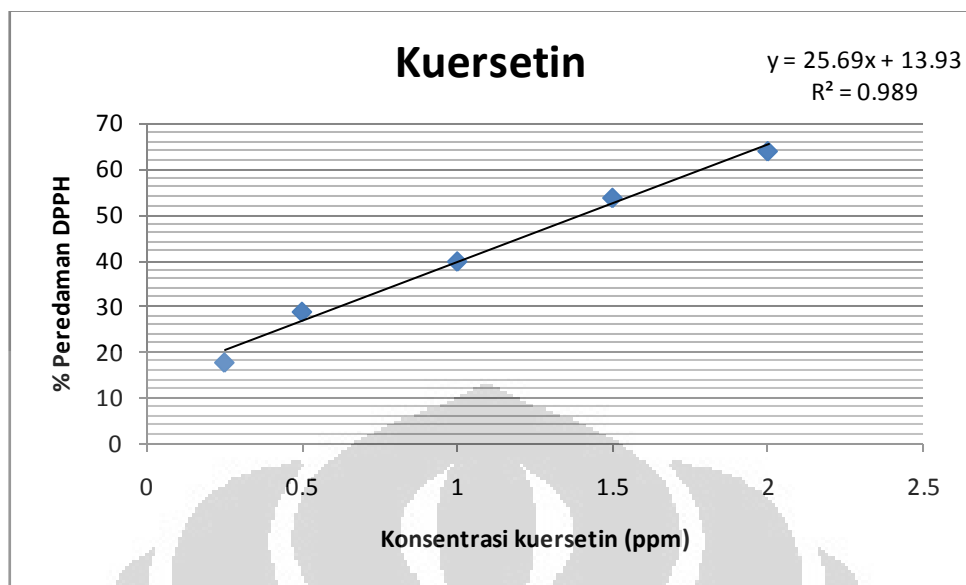
Keterangan: E. Fraksi E, hasil positif; P. pembanding Caryophilli Flos

Gambar 4.11. Profil KLT uji terpenoid fraksi E, dengan eluen butanol-asam asetat glasial-aquades (4:1:5), dengan penyemprot vanilin-asam sulfat menunjukkan hasil positif (berwarna biru-ungu)

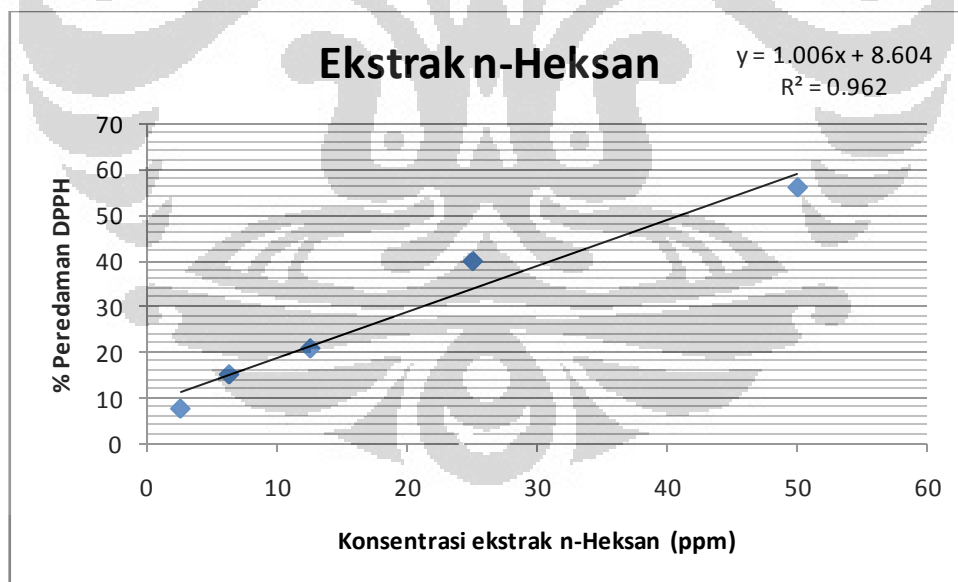


Keterangan: E. Fraksi E, P. pembanding Thea Folium

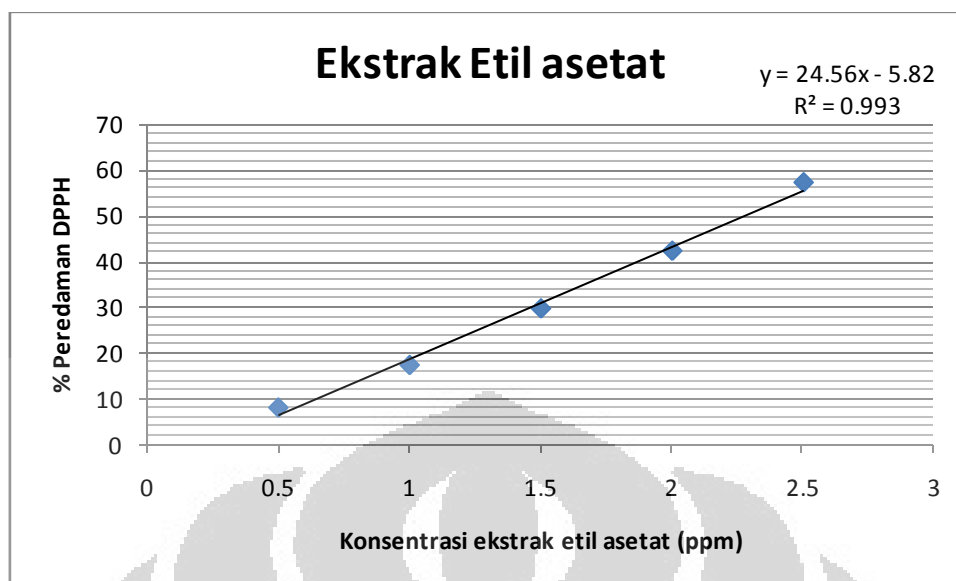
Gambar 4.12. Profil KLT uji tanin fraksi E, dengan eluen butanol-asam asetat glasial-aquades (4:1:5), dengan penyemprot  $\text{FeCl}_3$  menunjukkan hasil positif (kehitaman)



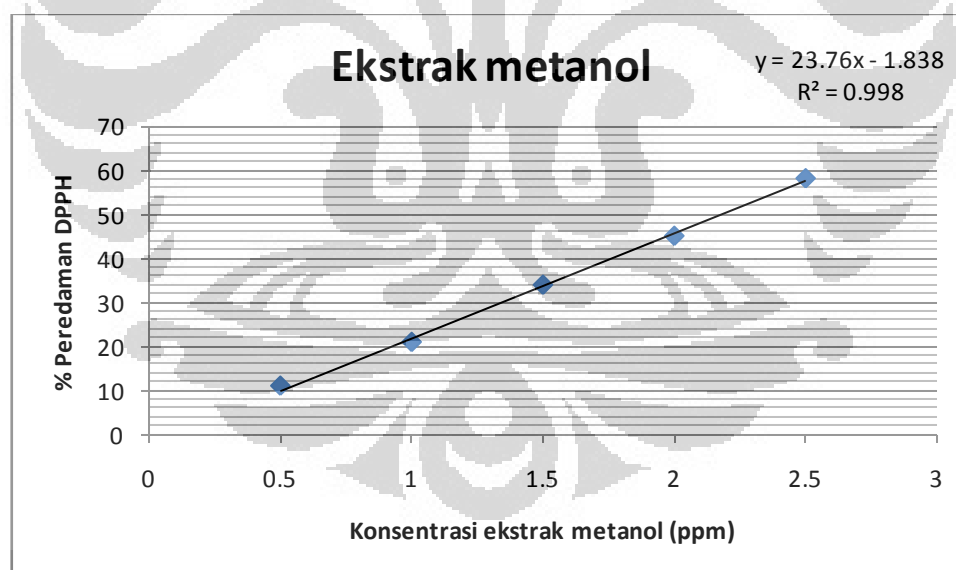
Gambar 4.13. Kurva hubungan konsentrasi kuersetin dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH



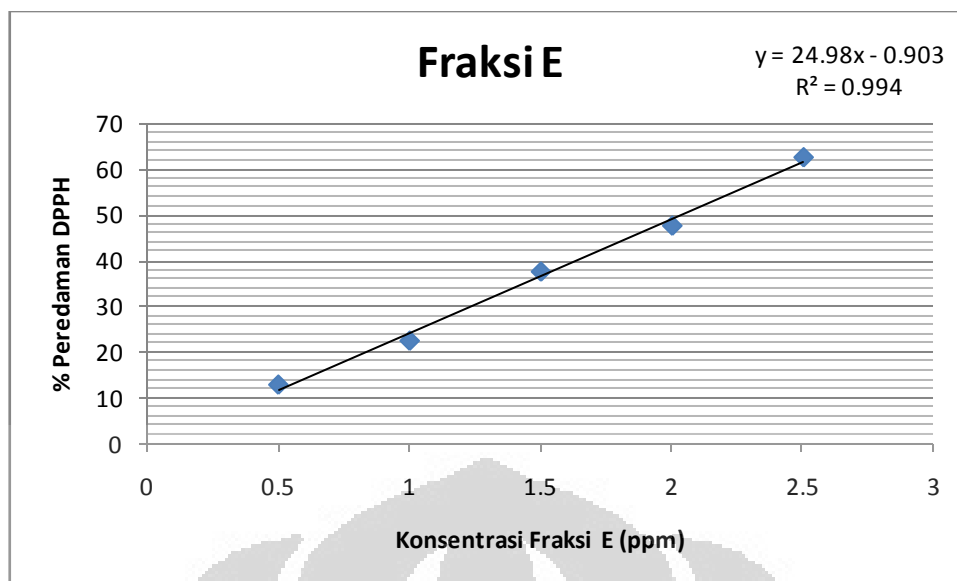
Gambar 4.14. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak n-heksan dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH



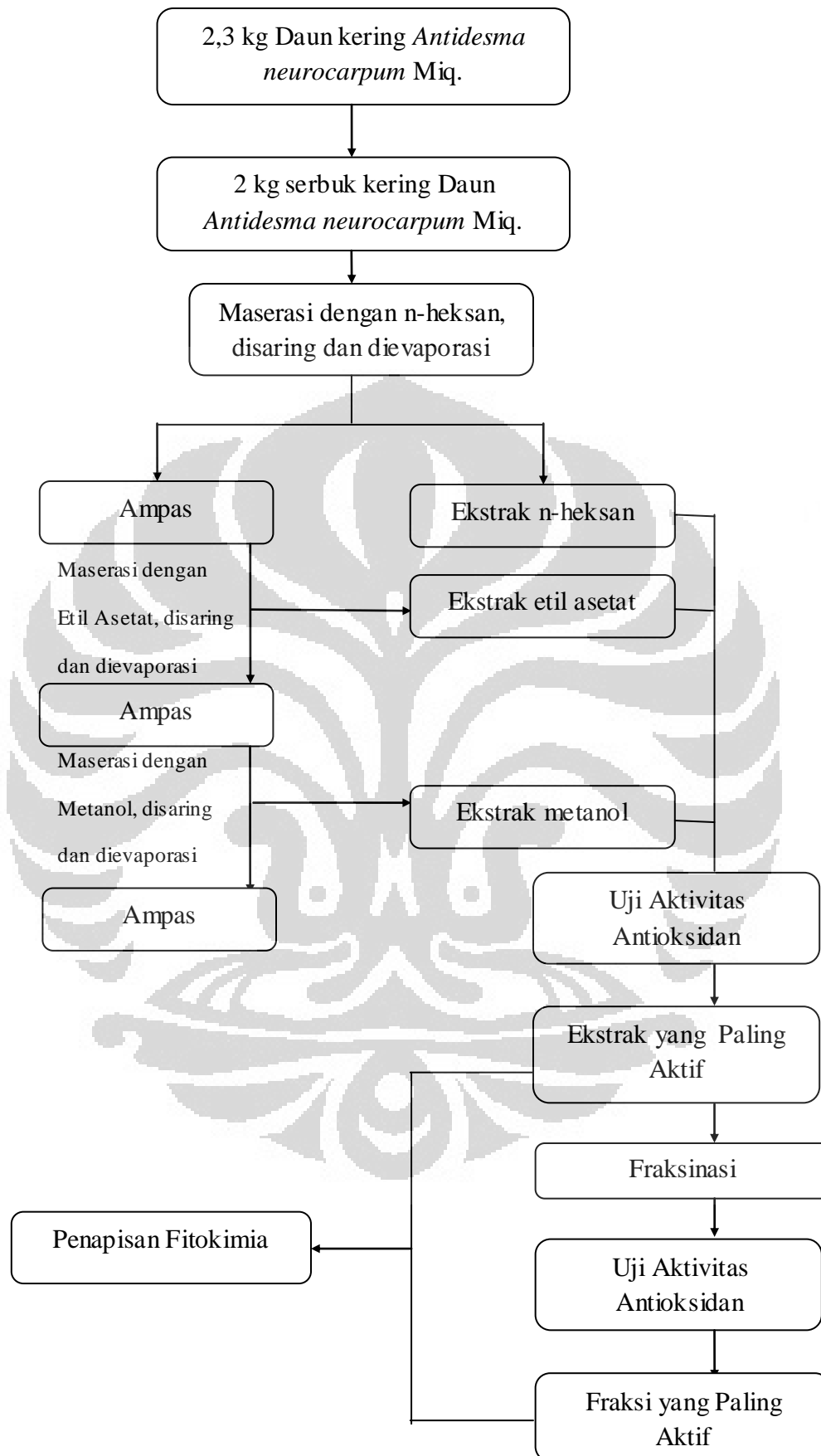
Gambar 4.15. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak etil asetat dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH



Gambar 4.16. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak metanol dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH

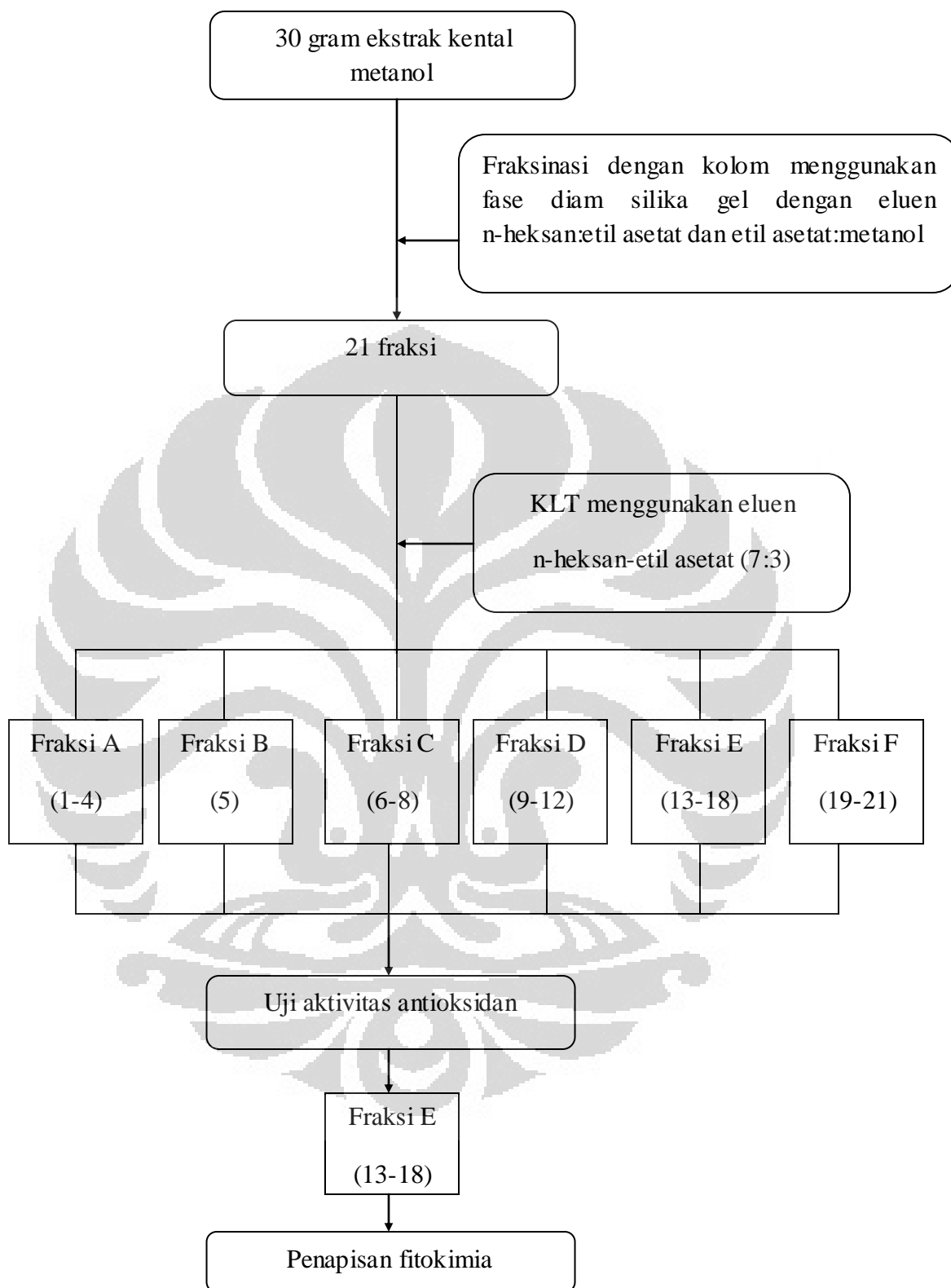


Gambar 4.17. Kurva hubungan konsentrasi fraksi E dalam berbagai variasi konsentrasi % peredaman DPPH



Gambar 4.18. Bagan uji aktivitas antioksidan daun *Antidesma neurocarpum* Miq.





Gambar 4.19. Bagan fraksinasi ekstrak metanol dengan kromatografi kolom dan uji aktivitas antioksidan fraksi yang teraktif.



**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) 8322187 - 8321657 - 8322220 - 8311362, 8352519, Fax. 62 (251) 8322187, 8313985

e-mail : kriblipi@indosat.net.id

Bogor, 15 Juni 2012

No. : 1735 /IPH.3.02/KS/VI/2012

Lampiran : -

Hal : Keterangan determinasi

Kepada Yth.:

Sdri. Putu Indah Lia

NPM. 0906601595

Fakultas Farmasi

Universitas Indonesia

Depok

Dengan hormat,

Dengan ini kami sampaikan bahwa spesimen tumbuhan yang diambil dari Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, LIPI adalah dari jenis daun kering *Antidesma neurocarpum* Miq., yang merupakan anggota Suku Euphorbiaceae.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

a.n. KEPALA

Kepala Bidang Konservasi Ex-situ

Dr. Joko Ridho Witono

NIP. 197010091994031004

