

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA CAMPURAN
DERIVAT KURKUMIN DAN KATEKIN HASIL ISOLASI DARI
DAUN TEH (*Camellia sinensis*)**

FITRIA SARI WULANINGSIH

0304037035



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN KIMIA

2008

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA CAMPURAN
DERIVAT KURKUMIN DAN KATEKIN HASIL ISOLASI DARI
DAUN TEH (*Camellia sinensis*)**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh:

FITRIA SARI WULANINGSIH

0303047035



DEPOK

2008

SKRIPSI : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA CAMPURAN
DERIVAT KURKUMIN DAN KATEKIN HASIL ISOLASI DARI
DAUN TEH (*Camellia sinensis*)

NAMA : FITRIA SARI WULANINGSIH

NPM : 0304037035

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JUNI 2008

Drs. RISWIYANTO, M.Si
PEMBIMBING I

Dr. HERRY CAHYANA
PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana:

Penguji I :

Penguji II :

Penguji III :

PERSEMBAHAN

IBU

Ibu merupakan kata tersejuk
yang dilantunkan oleh bibir-bibir manusia
dan "Ibuku" merupakan sebutan terindah
Kata yang semerbak cinta dan impian, manis dan syahdu
yang memancar dari kedalaman jiwa.

Ibu adalah segalanya
Ibu adalah penegas kata di kala lara
impian kita dalam rengsa, rujukan kita di kala mista

Ibu adalah mata air cinta, kemuliaan, kebahagiaan, dan toleransi
Siapapun yang kehilangan ibunya,
ia akan kehilangan sehelai jiwa suci
yang senantiasa merestui dan memberkatinya
(Kahlil Gibran)

Kupersembahkan Karya Ilmiah ini Kepada :
Bapak dan Ibu, adik-adik, serta teman-teman yang telah memberikan dorongan semangat
dan kasih sayang

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas petunjuk dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat selesai pada waktunya. Shalawat dan salam semoga terlimpahkan kepada Rasulullah *Shallallahu 'Alaihi wa Sallam*, keluarga, sahabat, dan umatnya hingga akhir zaman.

Pada kesempatan ini, penulis hendak mengucapkan rasa terima kasih kepada ibu dan bapak yang dengan penuh kesabaran mendidik serta membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang, juga terus memberikan motivasi dan doa kepada penulis. Untuk adik-adikku (Dewi dan Anik), terima kasih atas segalanya.

Penulis juga menghaturkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Drs. Riswiyanto, M.Si dan Dr. Herry Cahyana selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, kesabaran dalam membimbing, saran, masukan, dan motivasi selama penelitian.
2. Dr. Endang Saepudin selaku Pembimbing Akademis.
3. Dr. Ridla Bakri, selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA UI.
4. Para dosen, atas bekal ilmu pengetahuan yang telah diberikannya selama ini.

5. Pak Trisno, Pak Hedi, Pak Amin, dan seluruh staf Departemen Kimia yang telah banyak membantu.
6. Sahabat-sahabatku, Chacha (*thanks for being one of my best friend from the beginning*), Nur (terima kasih telah menjadi guruku yang tidak bosan-bosan mengajariku), Ima (*thanks for everything*), Tya 46(*c'mon you can do it!!!and finally we made it*), Atul, Farida, QQ, Lindhi, Riska, dan teman-teman K'2004 yang tidak dapat disebutkan satu per satu
7. Rillaers, Yani dan Dian(*we've been together from the beginning, thanks for everything*), Cie (terimakasih atas pinjaman komputernya), Mb' Eva, Mb'Amel, Mb'Suli, Nenek, Iren, Mia, Shinta, dan Iban (*thanks for being my family when i'm far from home*).
8. Teman-teman penelitian Lantai IV (Ari, Ami, Atri, Eka, Vero, K'Laili, K'Rika, Tina, Kurnia, Janti, Niezha, Isal, Citra, Wakhid, Irwan, Danar, K'Vera) dan Lantai III (Ratna, Opik, Hamim, Nath, Lani, Bernie, K'Dina, Mb'Isti, K'Santi, K'Ela), terima kasih atas segala bantuan dan ilmu yang diberikan.
9. Teman-teman K'2003, K'2004, K'2005 tiada kata yang dapat terucap untukmu selain terima kasih atas segala bantuan dan dukungannya selama ini.
10. Serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tetapi tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna
karenanya penulis senantiasa mengharapkan kritik dan saran demi
kesempurnaan tulisan ini. Penulis sungguh berharap semoga tulisan ini
dapat bermanfaat baik bagi penulis sendiri maupun bagi pembacanya.
Akhir kata, semoga bantuan yang telah diberikan oleh semua pihak
mendapatkan balasan kebaikan dari-Nya.

Penulis

Juni 2008



ABSTRAK

Senyawa kurkumin merupakan salah satu sumber antioksidan potensial yang dapat diperoleh dari tanaman kunyit kunyit (*Curcuma longa Linn*) atau temulawak (*Curcuma Xanthoriza*). Pada penelitian ini gugus karbonil (C=O) kurkumin akan direduksi menjadi gugus hidroksi (OH) dengan menggunakan reduktor LiAlH_4 . Setelah itu, kurkumin hasil reduksi dicampur dengan antioksidan lain yaitu katekin. Katekin merupakan senyawa polifenol utama yang terdapat pada teh hijau. Katekin dapat diisolasi dari daun teh dengan menggunakan metode ekstraksi pelarut dan partisi. Katekin yang diperoleh dari hasil isolasi dicampurkan dengan kurkumin tereduksi dengan perbandingan mol 1:1, 1:10, dan 10:1. Variasi perbandingan mol ini digunakan untuk melihat sejauh mana peranan antioksidan kurkumin tereduksi dan katekin dalam campuran. Campuran katekin dan kurkumin hasil reduksi dengan perbandingan 1:1 ternyata memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan kurkumin hasil reduksi, katekin, maupun campuran kurkumin tereduksi dan katekin dengan perbandingan 1:10 dan 10:1. Hal ini ditandai dengan semakin kecilnya nilai IC_{50} , yaitu sebesar 8,55 $\mu\text{g/mL}$ atau 10 kali lipat dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari katekin sebesar 85,44 $\mu\text{g/mL}$ dan 12 kali lipat dibandingkan dengan nilai IC_{50} kurkumin reduksi sebesar 102,63 $\mu\text{g/mL}$. Penambahan mol baik bagi kurkumin tereduksi maupun katekin dalam campuran tidak berpengaruh besar bagi aktivitas antioksidan campuran, dimana untuk campuran kurkumin dan katekin 1:10 diperoleh IC_{50} sebesar 35,26 $\mu\text{g/mL}$ dan untuk campuran

kurkumin dan katekin 10:1 diperoleh IC_{50} sebesar 49,37 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Aktivitas antioksidan campuran dengan perbandingan 1:10 dan 10: 1 masih kurang bagus dibandingkan dengan campuran kurkumin dan katekin 1:1.

Kata Kunci : Kurkumin; Katekin; Aktivitas Antioksidan, interaksi, sinergisme
xi + 79 hlm; gbr; tbl; lamp.

Bibliografi: 26 (1969-2007)



DAFTAR ISI

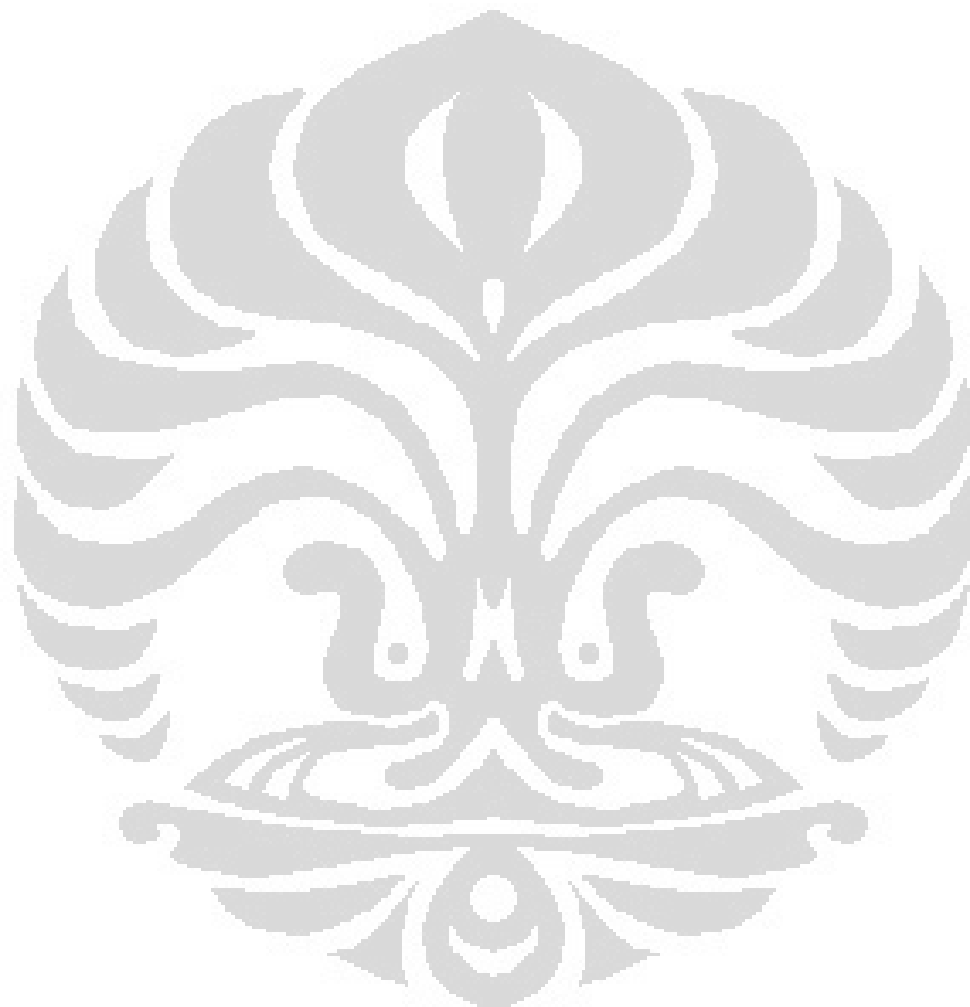
	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL dan GRAFIK	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Kurkumin	5
II.2 Tanaman kunyit	7
II.3 Tanaman Teh	9
II.4 Katekin	11
II.5 Antioksidan	14
II.6 DPPH	27
II.7 LAH	28

BAB III BAHAN DAN CARA KERJA	29
III.1 Lokasi	29
III.2 Bahan-bahan.....	29
III.3 Peralatan.....	30
III.4 Cara Kerja.....	30
III.4.1 Reduksi Kurkumin dengan LiAlH_4	30
III.4.2 Isolasi katekin dari Daun Teh	31
III.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan.....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
IV.1 Reduksi Kurkumin dengan LiAlH_4	37
IV.2 Isolasi Katekin dari Daun Teh	46
IV.3 Uji Aktivitas Antioksidan.....	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	67
V.1 Kesimpulan.....	67
V.2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN.....	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Kurkumin Dalam Bentuk Keto dan Enol.....	6
2.2 Tanaman Kunyit.....	10
2.3 Tanaman Teh	10
2.4 Bunga Teh	11
2.5 Struktur Katekin dan Epikatekin.....	12
2.6 Struktur BHT	21
2.7 Struktur gingerol	22
2.8 Struktur tokoferol	23
2.9 Struktur DPPH	29
4.1 Kurkumin tereduksi sebelum dan setelah dimurnikan.....	41
4.2 Mekanisme Reaksi Reduksi.....	41
4.3 Hasil Uji KLT Kurkumin tereduksi	44
4.4 Ekstrak katekin dalam etil asetat	48
4.5 Kristal katekin hasil isolasi	49
4.6 Hasil Uji KLT Katekin	51
4.7 Mekanisme Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH.....	53
4.8 Garis Linear dari Kurkumin Hasil Reduksi.....	55
4.9 Garis Linear dari Katekin Hasil Isolasi.....	57
4.10 Garis Linear dari Campuran Kurkumin & Katekin 1:1	59

4.11 Garis Linear dari Campuran Kurkumin & Katekin 1:10	60
4.12 Garis Linear dari Campuran Kurkumin & Katekin 1:10	62
4.13 IC ₅₀ dari kurkumin tereduksi, katekin, dan campuran	63
4.14 Prediksi Mekanisme Sinergisme Antara Kurkumin dan katekin	65

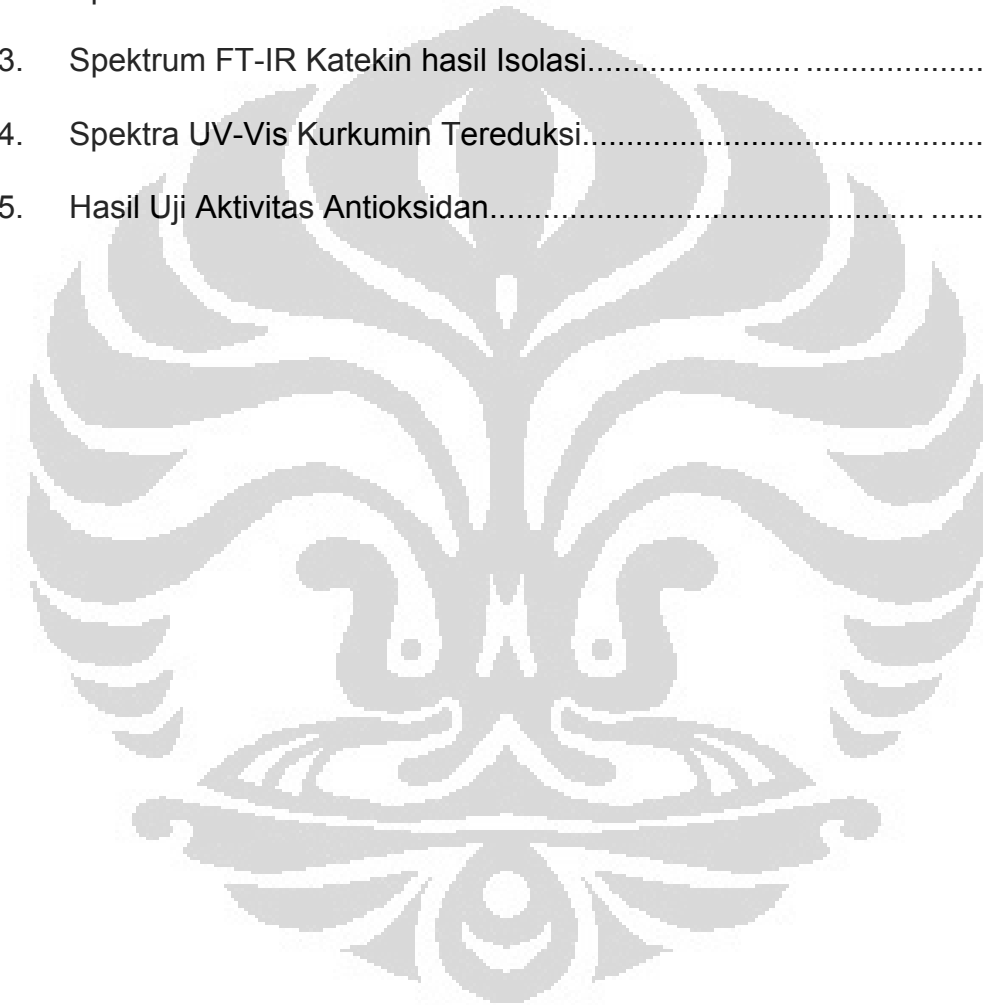


DAFTAR TABEL dan GRAFIK

Tabel	Halaman
1. Tabel 4.1 Daftar Spektra FT-IR Kurkumin Tereduksi.....	45
2. Tabel 4.2 Daftar Spektra FT-IR Katekin Hasil Isolasi	51
3. Grafik 4.1 Aktivitas Antioksidan Kurkumin Reduksi.....	54
4. Grafik 4.2 Aktivitas Antioksidan Katekin	56
5. Grafik 4.3 Aktivitas Antioksidan Kurkumin + Katekin 1:1	58
6. Grafik 4.3 Aktivitas Antioksidan Kurkumin + Katekin 1:10	60
7. Grafik 4.3 Aktivitas Antioksidan Kurkumin + Katekin 10:1	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Spektrum FT-IR Standar Kurkumin.....	73
2. Spektrum FT-IR Kurkumin Tereduksi.....	74
3. Spektrum FT-IR Katekin hasil Isolasi.....	75
4. Spektra UV-Vis Kurkumin Tereduksi.....	77
5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan.....	78



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seperti telah diketahui bahwa Indonesia kaya akan beragam tumbuhan yang bermanfaat, salah satu diantaranya adalah tanaman obat yang berasal dari famili Zingiberaceae. Dan dari sekitar 283 jenis tanaman obat famili Zingiberaceae, ada 12 jenis yang sering dipakai, yaitu : kunyit, jahe, lempuyang gajah, temu lawak, cabe jawa, lengkuas, kencur, lempuyang wangi, kedawung, bangle, pula sari, dan adas¹.

Sejak dahulu, kunyit telah banyak digunakan sebagai bahan aditif alami pada bahan makanan, industri tekstil, dalam pengobatan beberapa penyakit, perawatan kecantikan, serta upacara adat di beberapa daerah. Penggunaan kunyit kini telah semakin meluas . Hal ini disebabkan karena kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang membuktikan bahwa kunyit memberikan banyak manfaat baik dalam kesehatan, rempah masakan ,maupun industri. Kehadiran kunyit dimaksudkan untuk memberikan aroma, rasa, dan warna kuning yang khas². Oleh karena itu, pemanfaatan kunyit terus diteliti dan dikembangkan agar dapat dimanfaatkan secara optimal. Aktivitas biologis kunyit yang telah diketahui yaitu anti-inflamasi, anti HIV, anti bakteri, antioksidan, anti-mutagenik, juga anti-tumor³.

Beberapa penelitian sebelumnya telah banyak menggambarkan tentang kekayaan yang luar biasa dari senyawa kurkumin. Aktivitas biologis kunyit yang telah diketahui yaitu anti-inflamasi, anti HIV, anti bakteri, antioksidan, selain itu, kurkumin juga dapat dijadikan sebagai usaha preventif untuk penyakit kanker⁴. Kurkumin yang merupakan salah satu jenis antioksidan alami mampu mencegah pertumbuhan sel kanker dalam jumlah yang cukup besar baik secara sendiri maupun bila dikombinasikan dengan zat antioksidan lainnya.

Antioksidan memiliki peranan yang cukup penting bagi kesehatan, khususnya dalam mempertahankan tubuh dari kerusakan sel (penyakit) yang disebabkan oleh radikal-radikal bebas. Sedangkan pada industri, antioksidan diperlukan tidak hanya sebatas bahan aditif pada minyak tetapi juga banyak digunakan pada industri obat-obatan.

Senyawa antioksidan yaitu senyawa yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi, dimana zat antioksidan tersebut yang lebih dahulu teroksidasi. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan, misalnya pada lemak atau minyak. Antioksidan berguna untuk mencegah atau menghambat terjadinya proses oksidasi yang menjadikannya berbau tengik dan berasa tidak enak. Jika suatu antioksidan ditambahkan pada minyak atau lemak maka antioksidan tersebut akan teroksidasi terlebih dahulu sehingga dapat melindungi dan memperlambat proses oksidasi pada minyak atau lemak. Komponen antioksidan dalam makanan merupakan faktor penting dalam menjaga kesehatan. Sumber alami utama dari senyawa

ini yaitu pada buah-buahan, dan sayuran berupa vitamin C, vitamin E, karoten, asam fenolat, yang memiliki kemampuan untuk meminimalisir resiko timbulnya penyakit⁵. Selain antioksidan alami tersebut, juga digunakan antioksidan sintetis. Zat antioksidan sintetis yang efektif seperti BHA, BHT, dan PG banyak digunakan dalam industri makanan, kosmetik dan obat-obatan.

Pemanfaatan kurkumin sebagai antioksidan alami dapat terus berkembang, terlebih lagi saat sekarang ini penggunaan antioksidan sintetis sudah mulai dibatasi. Hal ini disebabkan karena antioksidan sintetis seperti *Butylated Hidroxy Toluene* (BHT) ternyata dapat meracuni hewan percobaan dan juga bersifat karsinogenik sehingga zat tersebut berpotensi untuk menimbulkan kanker. Oleh karena itu, industri makanan dan obat berupaya mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami yang baru². Hal ini karena antioksidan alami lebih aman dalam penggunaannya.

Katekin merupakan komponen terbesar yang terdapat pada daun teh (sekitar 30 % dari berat kering). Katekin ini merupakan komponen yang penting karena bertanggung jawab pada kelarutan teh dan merupakan sumber antioksidan yang potensial karena memiliki gugus fenolik yang telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan.

Dalam penelitian ini akan dilakukan penggabungan dua jenis antioksidan yang berbeda dengan harapan akan dihasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik. Penggabungan dilakukan antara kurkumin

tereduksi dengan katekin. Katekin dapat meregenerasi dan menstabilkan radikal kurkumin dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya kepada radikal kurkumin. Radikal kurkumin ini terbentuk ketika kurkumin menyumbangkan satu atom hidrogennya kepada radikal asam lemak yang terbentuk pada proses oksidasi lemak. Agar kurkumin dapat bekerja optimal dengan katekin maka dilakukan reduksi kurkumin menjadi bentuk yang lebih polar.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan dari senyawa campuran derivat kurkumin dan katekin hasil isolasi dari daun teh (*Camellia sinensis*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kurkumin

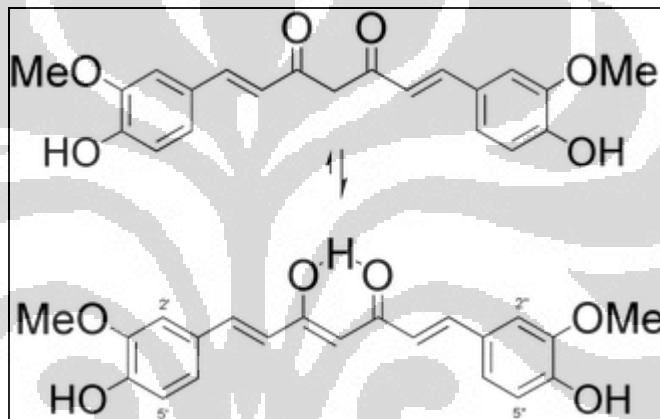
Kurkumin adalah senyawa yang terdapat pada tumbuhan kunyit (*Curcuma longa Linn*) atau tumbuhan temulawak (*Curcuma Xanthoriza*), dengan komposisi sebesar 2-6 %. kurkumin merupakan senyawa polifenol dan pemberi warna kuning pada kunyit serta temulawak. Kurkumin memiliki dua turunan lainnya yaitu demetoksi curcumin dan bis-demetoksicurcumin serta memiliki dua bentuk tautomeri yaitu bentuk keto dan bentuk enol.

Kurkumin memiliki rumus molekul $C_{21}H_{20}O_6$ dan berat molekul 368,38 g/mol⁶. Manfaat kurkumin sangat banyak seperti pewarna alami untuk makanan, minyak atsiri, pengobatan hepatitis, anti mikroba, anti kolesterol, anti HIV, menghambat proliferasi sel tumor pada usus besar, anti invasi, dan anti rematik, serta sebagai antioksidan dan lain-lain⁷.

Pewarna makanan kurkumin (kuning turmerik/kunyit) diperoleh dengan ekstraksi pelarut dari turmerik misalnya rimpang *Curcuma longa Linn* (*Curcuma domestica Valetton*), kemudian dilakukan pemurnian dengan rekristalisasi. Produk komersial biasanya terdiri dari kurkumin yang merupakan pewarna utama (1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) hepta-1,6-diene-3,5-dione) juga derivatnya yaitu desmetoksi dan bisdesmetoksi dengan

perbandingan yang bervariasi. Total kandungan dari zat pewarna (*curcuminoids*) dalam kurkumin sendiri tidak kurang dari 90%.

Selain itu mungkin juga terdapat minyak dan resin yang terbentuk secara alami dalam turmerik, tetapi jumlahnya sangat sedikit. Sinonim dari senyawa kurkumin adalah diferuloilmetan dan sinonim ini mengacu pada komponen pewarna yang terdapat pada kurkumin.



Gambar 2.1. Ketoenol Tautomerisasi Kurkumin

Turmerik oleoresin merupakan produk dari ekstraksi pelarut turmerik yang mengandung <90% dari total kandungan zat warna (*curcuminoids*). Telah ditetapkan bahwa *acceptable daily intake* (ADI) untuk kurkumin adalah sebesar 0–1 mg/kg berat badan yang didasarkan pada ADI untuk turmerik oleoresin (0–2.5 mg/kg berat badan) dengan asumsi konsentrasi rata-rata *curcuminoids* dalam turmerik sebesar 3%.

2.2 Tanaman Kunyit (*Curcuma longa*)

Kunyit memiliki nama ilmiah *Curcuma longa*. Kata *Curcuma* sendiri berasal dari bahasa Arab : *Kurkum* dan Yunani : *Karkom*. Pada tahun 77-78 SM, Dioscorides menyebut tanaman ini sebagai *Cyperus* yang menyerupai jahe, tetapi pahit, kelat, dan sedikit pedas, tetapi tidak beracun.

Kunyit merupakan tanaman obat berupa semak dan bersifat tahunan (*perennial*) yang tersebar di seluruh daerah tropis. Tanaman kunyit tumbuh subur dan liar di daerah sekitar hutan/ bekas kebun . Diperkirakan berasal dari Binar pada ketinggian sekitar 1300-1600 dpl, ada juga yang menyatakan bahwa kunyit berasal dari India. Tanaman kunyit sudah dikenal secara meluas oleh penduduk Indonesia. Tanaman ini, tumbuh dengan baik di daerah beriklim tropis, banyak dijumpai di dataran rendah maupun tinggi sampai ketinggian 2000 m dpl dan memiliki curah hujan antara 2000-4000 mm³ per tahun, dan suhu udara sekitar 19-30⁰C. Habitat asli tanaman ini meliputi wilayah Asia, khususnya Asia Tenggara. Kemudian habitatnya mengalami penyebaran ke daerah Indo-Malaysia, Indonesia, Australia, India, China, Haiti, Jamaika, dan Peru.

Di Indonesia, kunyit dikenal dengan bermacam-macam istilah karena masing-masing daerah memiliki sebutan tersendiri, seperti kunir, kunir bentis, temu kuning (Jawa), koneng, koneng temen, kunyir (Sunda), cahang (Dayak), kuneh (Flores), alawahu(Gorontalo), kone(Buru), rame, yau, kaindefu, nikwai

mingguai (Papua), guraci (Ternate), kunyit (Aceh), kuning (Gayo), konyet (Madura), huni (Bima), kuni, uni (Toraja), Kumino, unim, uminum (Ambon).

Kunyit terdiri dari rimpang berwarna kuning tergolong tanaman serbaguna, mulai dari daun hingga rimpangnya berguna baik sebagai bumbu masakan maupun dalam bidang kesehatan. Sebagai bahan obat tradisional, ramuan rimpang berwarna kuning ini diolah menjadi ramuan tradisional maupun dalam bentuk ekstrak.

Kemanjurannya sebagai obat pula telah dibuktikan oleh berbagai penelitian laboratorium. Penyakit yang dapat diobati dengan ramuan kunyit yaitu penyakit kulit, obat luar (bengkak dan rematik), membersihkan dan menurunkan tekanan darah, sakit maag, liver, empedal (batu empedu), gastritis, amandel, wasir, disentri, keputihan, malaria, sariawan mulut.

Dalam industri, baik rumah tangga maupun industri modern, kunyit telah banyak dimanfaatkan sebagai pewarna terutama untuk industri tekstil, kerajinan, dan makanan. Dari berbagai penelitian, telah diketahui aktivitas biologis dari kunyit diantaranya yaitu sebagai anti-inflamasi, anti-bakteri, antioksidan, dan juga anti-tumor.

Rimpang kunyit kering mengandung senyawa kurkuminoid sekitar 10%, kurkumin sekitar 2,5-6% dan sisanya terdiri dari desmetoksikurkumin serta bismetoksikurkumin. Kandungan rimpang kunyit yang lain meliputi : minyak atsiri 1-3%, lemak 3%, karbohidrat 30%, protein 8%, pati 45-55%, sisanya terdiri dari vitamin C, garam-garam mineral seperti zat besi, fosfor, dan kalsium.

Minyak atsiri atau juga disebut minyak esteris adalah minyak yang bersifat mudah menguap, yang terdiri dari campuran zat yang mudah menguap dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda. Di dalam minyak atsiri ini terdapat bau karakteristik dan rasa yang tajam. Bau dan rasa dipengaruhi dan berasal dari beberapa zat yang terdapat dalam minyak tersebut. Zat-zat tersebut meliputi keton sesquiterpene, aromatic tumerone (merupakan komponen terbesar yang terdapat dalam minyak atsiri), zingiberen, serta sisanya terdiri dari felaren, sabinen, borneol, dan sineol.

2.2.1 Taksonomi

Tanaman kunyit dikelompokkan berdasarkan taksonomi tumbuhan sbb :

Kerajaan/ kingdom	: Plantae
Divisi/Divisio	: Spermatophyta
Subdivisi/subdivisio	: Angiospermae
Kelas/class	: Monocoyledonae
Bangsa/ordo	: Zingiberales
Keluarga/familia	: Zingiberaceae
Marga/genus	: Curcuma
Jenis/spesies	: <i>Curcuma longa</i>
Nama Sinonim	: 1. <i>Curcuma domestica</i> Val 2. <i>Amomum curcuma</i> Murs.



Gambar 2.2. Tanaman Kunyit

2.3 Tanaman Teh (*Camellia sinensis*)

Daun teh (*Camellia sinensis*) banyak tumbuh di daerah pegunungan yang beriklim sejuk, pada ketinggian lebih dari 1.800 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini berakar tunggang dengan banyak cabang, setinggi 4-8 meter. Tanaman teh memiliki daun sepanjang tahun. Daun teh yang berwarna hijau terlihat mendominasi perkebunannya yang identik dengan hamparan warna hijau di kaki pegunungan.



Gambar 2.3. Tanaman Teh

Bunga teh berwarna putih dengan serbuk sari berwarna kuning., dengan masa untuk berbunga antara Maret-Mei. Bunga teh merupakan bunga *hermaphrodite* (memiliki organ jantan dan betina) dan mengalami

penyerbukan yang dibantu oleh lebah karena walaupun bersifat *hermaphrodite* tetapi tidak dapat terjadi penyerbukan sendiri.

Tanaman teh memerlukan tanah yang banyak terkena sinar matahari dan memiliki *drainase* (system pembuangan air) yang baik. Tanaman ini tumbuh dengan baik di tanah yang bersifat asam atau netral, bahkan tetap bisa tumbuh di tanah yang sangat asam.

Tanaman teh ini akan diambil daunnya untuk diproses lebih lanjut baik untuk skala industri rumah tangga (*home industry*) atau juga skala industri besar menjadi bermacam minuman teh di pasaran. Konsumsi teh dimulai sejak 4.000 tahun yang lalu, dan diperkirakan lebih dari 2,5 juta ton berat kering teh diproduksi tiap tahunnya di seluruh dunia.



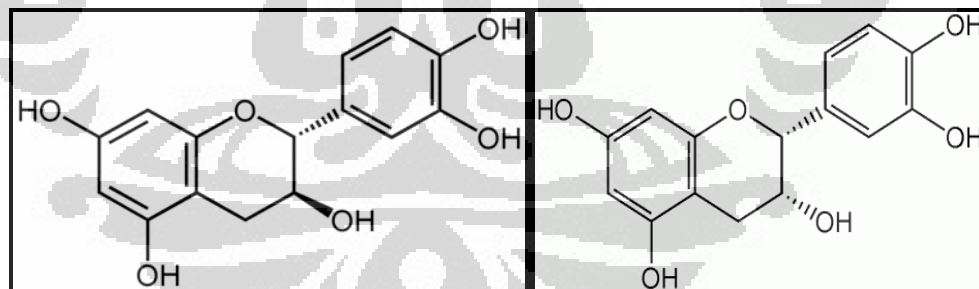
Gambar 2.4. Bunga Teh

Dalam pembagiannya, teh dapat dibedakan dalam tiga kategori utama berdasarkan pengolahannya. Yaitu teh hijau (tidak mengalami fermentasi), teh oolong (semi fermentasi) dan teh hitam (fermentasi penuh). Meski ketiga jenis teh ini berasal dari tanaman yang sama yakni *Camelia sinensis*, namun ada perbedaan yang cukup berarti dalam kandungan polifenolnya karena

perbedaan cara pengolahan. Kandungan polifenol, senyawa antioksidan yang kemudian diyakini berkhasiat bagi kesehatan, tertinggi diperoleh pada teh hijau, kemudian oolong, lalu disusul teh hitam. Teh mengandung lebih dari 36 persen polifenol, sekalipun jumlah ini masih dipengaruhi cuaca (iklim), varietas, jenis tanah dan tingkat kemasakan. Kunci utama dari khasiat teh berada pada komponen bioaktifnya, yaitu polifenol, yang secara optimal terkandung dalam daun teh yang muda dan utuh.

2.4 Katekin

Katekin adalah senyawa dominan dari polifenol teh. Katekin dan epikatekin merupakan epimer, dimana (-)-epikatekin dan (+)-katekin adalah isomer optik yang umum ditemukan di alam.



Gambar 2.5. Struktur katekin dan epikatekin

Katekin merupakan senyawa yang larut dalam air, tidak berwarna dan memberikan rasa pahit dan astringensi alias kelat. Katekin sendiri pertama kali diisolasi dari ekstrak tanaman *catechu*, darimana namanya diambil dan

diubah menjadi katekin (*catechin*). Pemanasan katekin melewati titik lelehnya kan mendekomposisi katekin menjadi *pyrocatechol*. *Catechin gallates* merupakan ester dari asam galat, contohnya EGCG ([epigallocatechin gallate](#)), yang merupakan senyawa katekin utama pada teh. Flavonol, zat antioksidan utama pada daun teh adalah kuersetin, kaempferol dan mirisetin. Sekitar 2- 3 persen bagian teh yang larut dalam air merupakan senyawa flavonol. Flavonol lebih merupakan glukosida daripada sebagai bentuk aglikon. Paling tidak sekitar 14 glikosida mirisetin, kuersetin dan kaempferol dalam teh segar, teh hijau dan teh hitam yang telah diketahui keampuhannya dalam menghalau kanker dan kolesterol.

Pada pengolahan teh hitam, katekin dapat teroksidasi membentuk warna dan cita rasa yang khas. Secara klasik warna teh hitam dapat dibagi ke dalam *orange-coloured theflavins* (TFs), yang memberikan merah keemasan, dan *brownish thearubigins* (TRs), yang memberikan warna kecoklatan. Dalam teh hitam, TFs dapat dikelompokkan menjadi empat, yaitu theaflavin, theaflavin-3-gallat, theaflavin-3'-gallat dan theaflavin-3,3'-gallat, membentuk reaksi antara turunan kuinon dari sebuah katekin sederhana dan gallokatekin. Sedangkan TRs merupakan sebuah kelompok heterogen warna fenolik dengan massa molekul relatif pada range 700 – 40.000. Kandungan berbagai senyawa inilah yang membuat teh bisa berwarna merah keemasan atau kecoklatan.

Sifat fungsional teh yang Belem mengalami fermentasi lebih tinggi dibandingkan dengan teh hitam. Ini ditunjukkan polifenol teh jauh lebih

berperan untuk mencegah terjadinya kanker dibandingkan polifenol teh hitam. Senyawa polifenol dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksil (OH \cdot), sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein dan DNA dalam sel. Radikal bebas yang berasal dari berbagai makanan awetan dan polusi udara, merupakan musuh utama kesehatan, kecantikan dan penuaan dini, seperti cepat keriput dan noda hitam pada kulit. Kemampuan polifenol menangkap radikal bebas, 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C, dan 25 kali lebih efektif dari vitamin E. Hal yang sama juga terjadi pada LDL, kolesterol yang berbahaya bagi tubuh. Katekin dan theflavin membantu menyingkirkan radikal bebas, sehingga tidak memiliki kesempatan mengoksidasi LDL yang dapat membentuk plak pada dinding arteri, yang menjadi penyebab aterosklerosis. Dengan demikian, antioksidan pada teh dapat memperlancar arteri mengirim darah yang penuh gizi ke jantung dan ke seluruh tubuh.

Selain itu, kandungan epigalokatekin dan epigalokatekin galat pada daun teh dapat menghambat aktivitas enzim yang mengatur tekanan darah dan dapat membantu mengurangi penyerapan vitamin B1 yang mengakibatkan berkurangnya aktivitas metabolisme gula sehingga berat badan bisa turun. Maka dengan mengkonsumsi teh secara teratur setiap hari, dapat menstimulasi terjadinya penurunan tekanan darah dan membantu menormalkan tekanan darah penderita tekanan darah tinggi.

2.4.1 Taksonomi

Tanaman teh dikelompokkan berdasarkan taksonomi tumbuhan sbb :

Kerajaan/ kingdom	: Plantae
Divisi/Divisio	: Magnoliophyta
Kelas/class	: Magnoliopsida
Bangsa/ordo	: Ericales
Keluarga/familia	: Theaceae
Marga/genus	: <i>Camellia</i>
Jenis/spesies	: <i>Camellia sinensis</i>
Nama sinonim	: 1. <i>Camellia bohea</i> - L. 2. <i>Camellia theifera</i> - Griff.

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang berfungsi sebagai penetral senyawa-senyawa berbahaya atau senyawa yang bersifat toksik bagi tubuh yang disebut radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh dari kumpulan enzim-enzim dalam tubuh, vitamin suplemen, atau zat-zat aditif¹¹.

Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak, segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Dari berbagai antioksidan yang ada, mekanisme mereka serta kemampuannya sebagai antioksidan sangat bervariasi. Seringkali, kombinasi dari beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) terhadap oksidasi dibandingkan

dengan satu jenis antioksidan saja. Sebagai contoh asam askorbat seringkali dicampur dengan antioksidan yang merupakan senyawa fenolik untuk mencegah reaksi oksidasi lemak¹².

Proses oksidasi inilah yang pada umumnya menyebabkan kerusakan pada senyawa-senyawa yang berangka karbon. Penyebab penurunan kualitas, dengan timbulnya bau tengik, perubahan warna, dan rasa, serta penurunan nilai gizi yang ada pada minyak atau lemak adalah senyawa-senyawa yang merupakan produk akhir dari suatu reaksi oksidasi berantai, dimana inisiator dan propagatornya adalah suatu radikal bebas. Di dalam tubuh, radikal bebas dapat mengoksidasi asam-asam nukleat atau DNA yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif.

Penghilangan atau inaktivasi dari suatu radikal bebas asam lemak maupun radikal bebas peroksida, akan mencegah atau setidaknya memutuskan rantai reaksi oksidasi yang terjadi pada tahap awal. Sedangkan antioksidan diharapkan dapat memperlambat waktu terbentuknya produk akhir oksidasi. Pendeaktifan dari radikal-radikal bebas tersebut dilakukan dengan penambahan zat antioksidan yang dapat memperlambat proses oksidasi melalui berbagai mekanisme, yaitu bereaksi dengan radikal bebas (*radical scavenger*), mengikat ion logam, menangkap singlet oksigen, dan sebagai filter radiasi UV.

Komponen antioksidan di dalam makanan memegang peranan cukup penting dalam menjaga kesehatan. Antioksidan dapat mereduksi resiko

timbulnya penyakit kronik seperti kanker dan hati. Sumber alami utama senyawa antioksidan yaitu pada buah dan sayuran.

Senyawa antioksidan yang dapat ditambahkan ke dalam bahan makanan memiliki kriteria, yaitu :

1. Tidak beracun dan tidak memiliki efek fisiologis.
2. Tidak menimbulkan aroma yang tidak enak, rasa dan warna pada bahan makanan.
3. Efektif dalam jumlah yang kecil (0,01-0,1%).
4. Tidak mahal dan mudah tersedia.
5. Tahan terhadap proses pengolahan produk (berkemampuan antioksidan yang baik)

Ciri kelima merupakan hal yang sangat penting karena sebagian proses pengolahan menggunakan suhu tinggi. Suhu tinggi akan merusak lipida dan stabilitas antioksidan yang ditambahkan sebagai bahan tambahan pangan. Kemampuan bertahan antioksidan terhadap proses pengolahan sangat diperlukan untuk dapat melindungi produk akhir.

Sebagaimana suatu benda pada umumnya, antioksidan juga memiliki keterbatasan-keterbatasan. Keterbatasan tersebut meliputi :

- (a) antioksidan tidak dapat memperbaiki flavor lipida yang berkualitas rendah,
- (b) antioksidan tidak dapat memperbaiki lipida yang sudah tengik, dan

(c) antioksidan tidak dapat mencegah kerusakan hidrolisis, maupun kerusakan mikroba⁴.

Antioksidan yang sering ditambahkan ke dalam makanan dapat bersifat alami, seperti tokoferol dan beta-karoten atau merupakan antioksidan sintetis seperti BHA (butylated hydroxytoluene), PG (propil galat), dan TBHQ (di-t-butyl hydroquinone).

2.5.1. Klasifikasi Antioksidan

Dalam antioksidan terdapat beberapa klasifikasi, yaitu :

2.5.1.1. Klasifikasi berdasarkan struktur kimia

Berdasarkan struktur kimianya, MATTIL dan OLCOTT membagi antioksidan atas beberapa tipe :

2.5.1.1.1. Tipe Asam

Beberapa antioksidan dari tipe asam biasanya memiliki sifat sinergis, antioksidan ini akan mengandung gugusan antioksidan yang aktif seperti o- atau p-kuinol. Sejumlah antioksidan dari tipe asam antara lain : asam askorbat, asam fumarat, asam maleat, dan asam sitrat.

Sifat sinergis adalah sifat yang dimiliki antioksidan yang bila ditambahkan ke dalam antioksidan primer yang lain maka aktivitas antioksidan primer tersebut akan meningkat, walaupun bila dalam keadaan sendiri-sendiri antioksidan yang memiliki sifat sinergis tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang kecil.

Gabungan antara zat yang bersifat sinergis dengan zat antioksidan primer lainnya disebut dengan sinergisme. Sinergisme adalah gabungan dari dua aksi zat-zat antioksidan atau lebih dengan tujuan untuk menghasilkan pengaruh yang jauh lebih besar daripada fungsinya semula. Biasanya ditandai dengan meningkatnya aktivitas antioksidan dari kedua zat tersebut. Contohnya adalah asam askorbat dan asam palmitat. Biasanya digunakan dalam antioksidan minyak kelapa.

Mekanisme dari gabungan asam askorbat dan asam palmitat dalam minyak yang sebenarnya belum diketahui, akan tetapi kemungkinan besar meliputi :

- a. Pengkelatan deaktivasi dari logam-logam peroksida di dalam minyak.
- b. Regenerasi antioksidan primer.
- c. Pencegahan dekomposisi peroksida, jadi memutuskan proses autooksidasi.

2.5.1.1.2. Tipe Inhibitor dan Hidroquinon

Diwakili oleh tokoferol yang mungkin juga termasuk dalam kelompok fenolik, akan tetapi pada cara penggolongan yang pertama, kinol dan inhibitor dibedakan berdasarkan atas perbedaan strukturnya.

2.5.1.1.3. Tipe Fenol .

Aktivitas antioksidan tipe fenol mempunyai hubungan dengan proses kesetimbangan oksidasi-reduksi (redoks) antara kinol dan kinon. Antioksidan dengan jumlah fenol yang besar biasanya dipergunakan pada minyak dan lemak makan. Antioksidan tipe fenolik ini seringkali disebut juga sebagai

antioksidan primer, yaitu senyawa yang berfungsi menghambat atau memutuskan mekanisme radikal bebas pada autooksidasi trigliserida.

2.5.1.2. Klasifikasi berdasarkan sumber

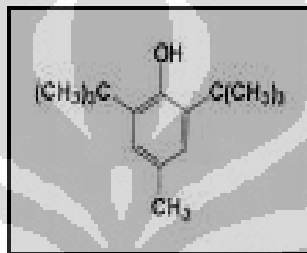
Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

2.5.1.2.1. Antioksidan Sintetis

Merupakan hasil produksi secara besar-besaran senyawa kimia berdasarkan penelitian yang mempunyai aktivitas antioksidan. Di antara beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan untuk makanan, ada lima antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar di seluruh dunia, yaitu Butil Hidroksil Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propil Galat (PG), dan Tert- Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).

BHA dapat bertindak sebagai antioksidan karena merupakan donor hidrogen sehingga dapat memutuskan rantai radikal bebas dan reaksi rantai tidak berkelanjutan¹⁴. BHA memiliki kemampuan antioksidan (*carry through*, kemampuan antioksidan baik dilihat dari ketahanannya terhadap tahap-tahap pengolahan maupun stabilitasnya sebagai produk akhir) yang baik pada lemak hewan dalam sistem makanan panggang, namun relatif tidak efektif pada minyak nabati. BHA bersifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk padat putih dan dijual dalam bentuk tablet atau serpih, bersifat volatil sehingga berguna untuk penambahan materi pengemas.

Antioksidan sintetik BHT memiliki sifat serupa BHA, berbentuk kristal padat putih dan digunakan secara luas karena relative murah. Propil galat mempunyai karakteristik sensitive terhadap panas, terdekomposisi pada titik cairnya 148⁰C. Selain itu, propil galat memiliki sifat berbentuk kristal padat putih, sedikit tidak larut lemak tetapi larut air.



Gambar 2.6. Struktur BHT

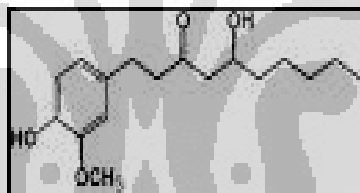
TBHQ dikenal sebagai antioksidan yang paling efektif untuk lemak dan minyak, khususnya minyak nabati karena memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada penggorengan tetapi rendah pada pembakaran. TBHQ dikenal berbentuk bubuk putih samapi coklat terang, mempunyai kelarutan cukup pada lemak dan minyak.

2.5.1.2.2. Antioksidan Alami

Antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh dari bahan alam. Sebagian besar berasal dari tumbuhan tingkat tinggi yang telah diuji aktivitasnya sebagai antioksidan merupakan golongan fenol dan turunannya, sedangkan yang lainnya merupakan senyawa golongan nitrogen dan beberapa bentuk senyawa lain. Antioksidan tersebut dapat dibedakan pula

berdasarkan nilai gizinya, yaitu antioksidan gizi seperti tokoferol, vitamin C, karotenoid, dan antioksidan non gizi seperti senyawa fenolik dan asam organik. Salah satu contoh aktivitas antioksidan dari tokoferol dapat dilihat dari kerja vitamin E, mekanisme kerja antioksidan ini sama halnya dengan antioksidan fenolik lainnya seperti BHT.

Sedangkan contoh aktivitas antioksidan non gizi dapat dilihat dari famili Zingiberaceae. Dikatakan bahwa ekstrak diklorometan rimpang jahe (*Zingiber Officinale Rosc*) terdapat aktivitas antioksidan yang besar. Dari ekstrak tersebut diperoleh lima senyawa gingerol, 8 senyawa diarilheptanoid dan curcuminoid.

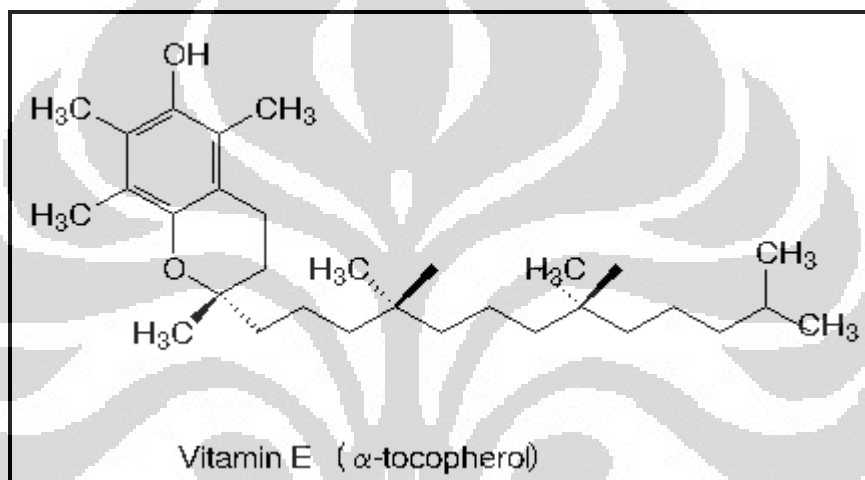


Gambar 2.7. Struktur gingerol

Kebanyakan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah berasal dari tumbuhan. Dalam dunia tumbuh-tumbuhan, Angiosperm memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami

tersebar di beberapa bagian tanaman seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari¹⁶.

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan fenolik/favonoid, senyawa α , β , γ , δ -tokoferol, lesitin, vitamin E, vitamin C dan β -karoten



Gambar 2.8. Struktur α -tokoferol

Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, seperti rempah-rempah, dedaunan, teh, kakao, biji-bijian, sereal, buah-buahan, sayur-sayuran dan tumbuhan/alga laut. Bahan pangan ini mengandung jenis senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, seperti asam-asam amino, asam askorbat, golongan flavonoid, tokoferol, karotenoid, tannin, peptida, melanoidin, produk-produk reduksi, dan asam-asam organik lain.

Tumbuhan rempah-rempah sudah sejak lama dikenal kegunaannya untuk manusia, misalnya untuk memberi aroma, rasa pada makanan, untuk

obat-obatan, atau memiliki sifat antiseptik. Hasil penelitian dari beberapa peneliti dunia menyebutkan bahwa tumbuhan rosemary dan sage memiliki antioksidan efektif untuk memperlambat kerusakan oksidatif pada lemak babi, begitu pula antioksidan dari tumbuhan thyme, oregano, pala, bunga pala dan kunyit.

Keefektifan antioksidan dari rempah-rempah kemudian menarik untuk dicobakan pada berbagai jenis makanan, dan hasil-hasil penelitian tersebut merangsang para peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi komponen-komponen aktif dari berbagai jenis rempah. Senyawa-senyawa fenolik *volatile* seperti eugenol, isoeugenol, thymol dan lain-lain memiliki aktivitas antioksidan menonjol, namun mereka memiliki odor yang terlalu kuat sehingga membatasi kegunaannya sebagai bahan tambahan pangan.

2.5.3. Mekanisme Antioksidan

Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hydrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hydrogen secara cepat ke radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan

berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil¹⁷.

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat reaksi oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hydrogen. Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida. Radikal peroksida lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru. Berikut merupakan reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida :



Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sample yang akan diuji¹⁸.

Penghambatan oksidasi lipida oleh antioksidan melalui lebih dari satu mekanisme tergantung pada kondisi reaksi dan sistem makanan. Ada empat kemungkinan mekanisme penghambatan tersebut yaitu :

(a) pemberian hidrogen,

- (b) pemberian elektron,
- (c) penambahan lipida pada cincin aromatik antioksidan, dan
- (d) pembentukan kompleks antara lipida dan cincin aromatik antioksidan.

Studi lebih lanjut mengamati bahwa ketika atom hidrogen labil pada suatu antioksidan tertentu diganti dengan deuterium, antioksidan tersebut menjadi tidak efektif. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme penghambatan dengan pemberian hidrogen lebih baik dibanding pemberian elektron. Beberapa peneliti percaya bahwa pemberian hidrogen atau elektron merupakan mekanisme utama, sementara pembentukan kompleks antara antioksidan dengan rantai lipida adalah reaksi sekunder.

Antioksidan sekunder, seperti asam sitrat, asam askorbat, dan esternya, sering ditambahkan pada lemak dan minyak sebagai kombinasi dengan antioksidan primer. Kombinasi tersebut dapat memberi efek sinergis sehingga menambah keefektifan kerja antioksidan primer. Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme berikut :

- (a) memberikan suasana asam pada medium (sistem makanan)
- (b) meregenerasi antioksidan utama
- (c) mengkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan
- (d) menangkap oksigen
- (e) mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen

Radikal-radikal yang terbentuk juga dapat dideaktifkan dengan jalan mengikatnya dengan senyawa yang dikenal sebagai *radical scavenger*. Pada tahap permulaan, *radical scavenger* akan memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga dapat menghambat pembentukan radikal peroksida. Penghilangan radikal dengan memberikan senyawa yang merupakan *radical scavenger* akan memutuskan rantai reaksi. Radikal antioksidan yang terbentuk bersifat stabil dan dapat bergabung langsung dengan radikal lain untuk membentuk senyawa yang inert. Senyawa yang termasuk ke dalam kelompok *radical scavenger* adalah senyawa fenolik, tokoferol, flavonoid, dan sebagainya.

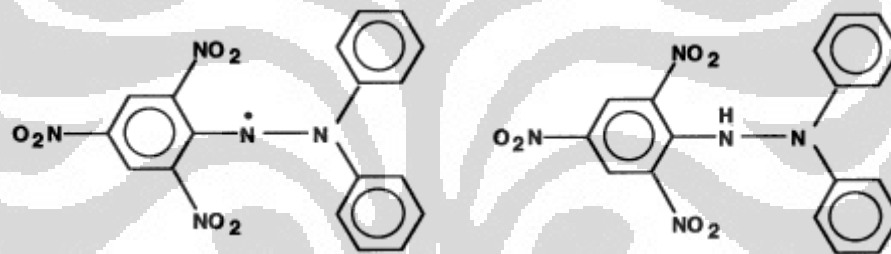
2.6 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Senyawa DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ($M_r = 394,33$) memiliki karakter sebagai radikal bebas yang stabil. Hal ini disebabkan oleh adanya delokalisasi dari elektron cadangan yang melingkupi seluruh molekulnya sehingga molekul tersebut tidak dapat mengalami dimerisasi sebagaimana yang sering terjadi pada senyawa-senyawa radikal bebas yang lain. Delokalisasi juga menyebabkan timbulnya warna ungu yang cukup gelap. Untuk melakukan karakterisasi dari DPPH adalah dengan melarutkan dalam etanol atau metanol pada konsentrasi sekitar $10 \mu\text{M}$ sampai $100 \mu\text{M}$ lalu diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 515 \text{ nm}$.

Metode pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan DPPH telah ditemukan sejak tahun 1958 oleh Marsden Blois seorang pengajar dari

Stanford University¹⁵. Dia menggunakan pertama kali dalam percobaannya menguji antioksidan dari asam amino sistein.

Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari metode DPPH adalah dengan mengukur nilai "efficient concentration" atau EC₅₀ (sekarang lebih dikenal dengan IC₅₀ "Inhibition Concentration"). Nilai ini memberikan hasil perbedaan warna dan serapan pada substrat yang telah kehilangan 50% aktivitas dari DPPH. Parameter ini pertama kali diperkenalkan oleh Brand Williams *et al* dan telah banyak digunakan oleh para peneliti untuk mempresentasikan hasil penelitian mereka¹⁷.



1. Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

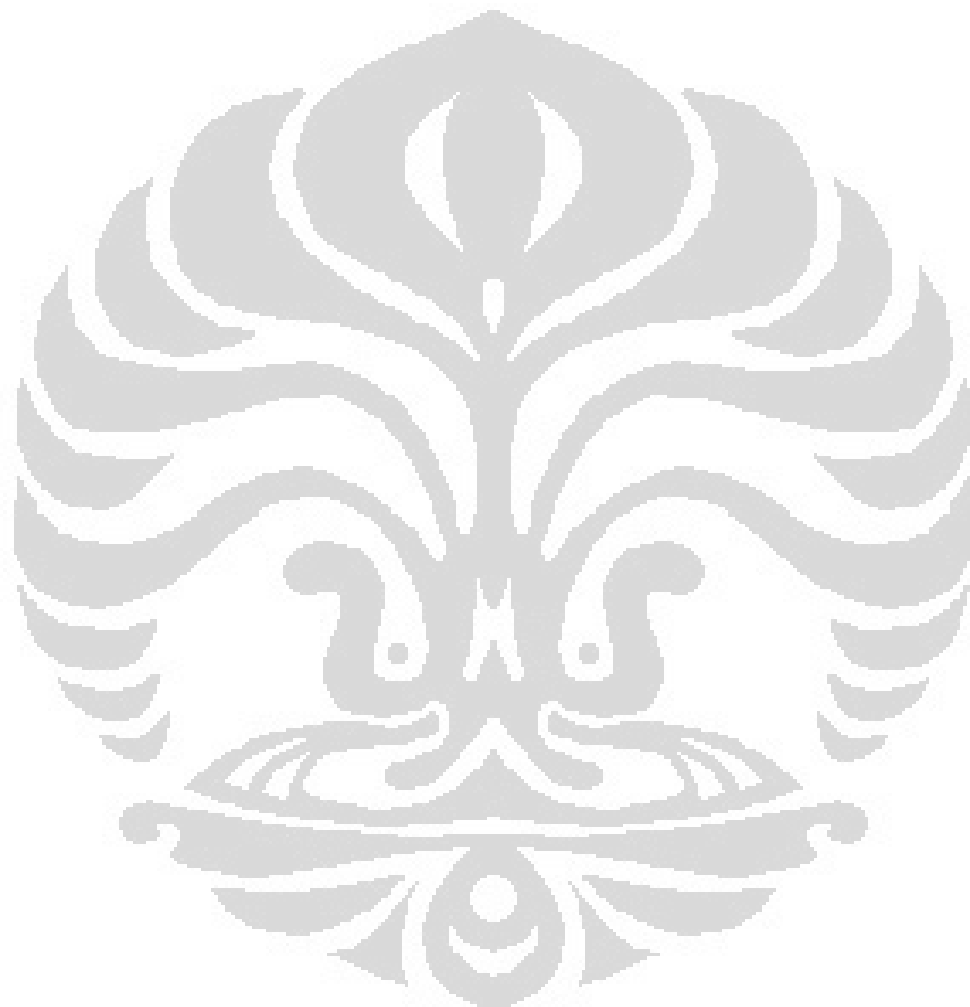
2. Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

Gambar 2.9. Struktur DPPH

2.7 LAH (Litium Alumunium Hidrida)

Litium alumunium hidrida (LiAlH₄) adalah reduktor yang sangat baik untuk mereduksi dan menghidrolisis beberapa senyawa polar, contohnya –COCl, -CO₂H, -CO₂Et, dan -CHO direduksi menjadi -CH₂OH; -CO menjadi -CHOH; -CH=NOH dan -CH₂NH₂. Reaksi reduksi biasanya terjadi pada suhu kamar atau di bawahnya, berlangsung cepat dan tanpa menghasilkan reaksi samping. LiAlH₄ atau yang biasanya disingkat dengan LAH, merupakan

pereduksi yang lebih kuat daripada sodium borohidrida (NaBH_4), karena ikatan Al-H lebih lemah daripada ikatan B-H. Pelarut yang baik untuk LAH adalah dietil eter dan THF. Kelarutan LAH pada suhu ruang (25°C) dalam dietil eter sebesar 5,92 mol/L dan dalam THF sebesar 2,96 mol/L.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi

Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok. Uji FT-IR dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Ciputat, Tangerang. Uji UV-Vis dilakukan di Laboratorium Departemen Kimia, FMIPA-UI.

3.2. Bahan-bahan

- Standar kurkumin
- Standar katekin
- DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil)
- LiAlH_4
- Eter
- Etanol
- Metanol
- Kloroform

- HCl 1 M
- Etil asetat
- *n*-heksana

3.3. Peralatan

- Peralatan gelas
- KLT
- *Magnetic stirrer*
- Kertas saring
- Timbangan analitis
- Rotatory Evaporator
- Labu bulat
- pH meter
- Termometer
- Labu ekstraksi

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Reduksi Kurkumin dengan LiAlH_4

Kurkumin sebanyak 0,3684 g direaksikan dengan LiAlH_4 sebanyak 0,0399 g dalam 25 mL pelarut eter. Campuran diaduk dengan kecepatan sedang selama tiga jam pada suhu kamar. Selanjutnya larutan disaring untuk dipisahkan antara endapan dan

larutannya. Larutan yang dipisahkan dibiarkan sehari semalam sampai terbentuk kristal. Kristal yang didapat, dikeringkan lalu dicuci dengan larutan asam encer HCl 1M. Penambahan asam encer ini berfungsi untuk membebaskan kurkumin tereduksi dari bentuk garamnya. Setelah itu dilakukan penyaringan kembali dan kristal dидiamkan hingga kering dalam cawan porselen. Kristal tersebut untuk selanjutnya akan dilakukan identifikasi dengan KLT dan menggunakan larutan pengembang *n*-heksana : etil asetat = 9 : 7. Kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR.

3.4.2. Isolasi Katekin dari Daun Teh (*Camellia sinensis*)

Daun teh yang sudah dikeringkan sebanyak 10 g, direndam dalam 50 mL metanol dan diaduk selama tiga jam. Setelah itu ekstrak dibiarkan semalam. Pemisahan katekin dan metanol dilakukan dengan menggunakan *rotatory evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar katekin. Dalam hal ini, perlu dilakukan penambahan akuades secukupnya ke dalam ekstrak kasar tersebut. Ekstrak katekin kasar ini dipartisi dengan kloroform sebanyak satu kali. Kemudian dilakukan ekstraksi sebanyak dua kali dengan menggunakan *n*-heksana dengan perbandingan volume 1 :1. Ekstrak kemudian diasamkan hingga pH 3-4 (optimalnya 3,5) dengan asam fosfat dan ditambahkan garam NaCl atau KCl. Selanjutnya ekstrak

disaring untuk memisahkan ekstrak katekin dengan garam. Hasil ekstrak kemudian dipartisi lagi dengan etil asetat sebanyak dua kali juga dengan perbandingan volume 1 : 1. Setelah itu dilakukan penambahan Na_2SO_4 anhidrat ke dalam fasa etil asetat. Na_2SO_4 anhidrat ini berfungsi sebagai penarik air. Karena kemungkinan selama ekstraksi, pemisahan yang dilakukan lewat corong pisah kurang sempurna sehingga masih ada air yang terbawa dalam fasa etil asetat. Untuk memperoleh kristal katekin, maka etil asetat diuapkan pada $T \leq 80^\circ\text{C}$.

3.4.3. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap kurkumin yang telah direduksi, dan katekin hasil isolasi serta campuran kurkumin tereduksi dengan katekin hasil isolasi, dengan perbandingan 1:1, 1:10, dan 10:1. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *radical scavenger* terhadap DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Sampel dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 1 mL DPPH 10 M dalam metanol hingga volumenya menjadi 10 mL. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 515 \text{ nm}$ selama 30 menit dengan interval 5 menit. Aktivitas antioksidan dapat diukur sebagai penurunan

serapan larutan DPPH, sebagai akibat penambahan sampel. Nilai serapan DPPH terhadap sampel disebut sebagai % inhibisi.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \%$$

A_{kontrol}

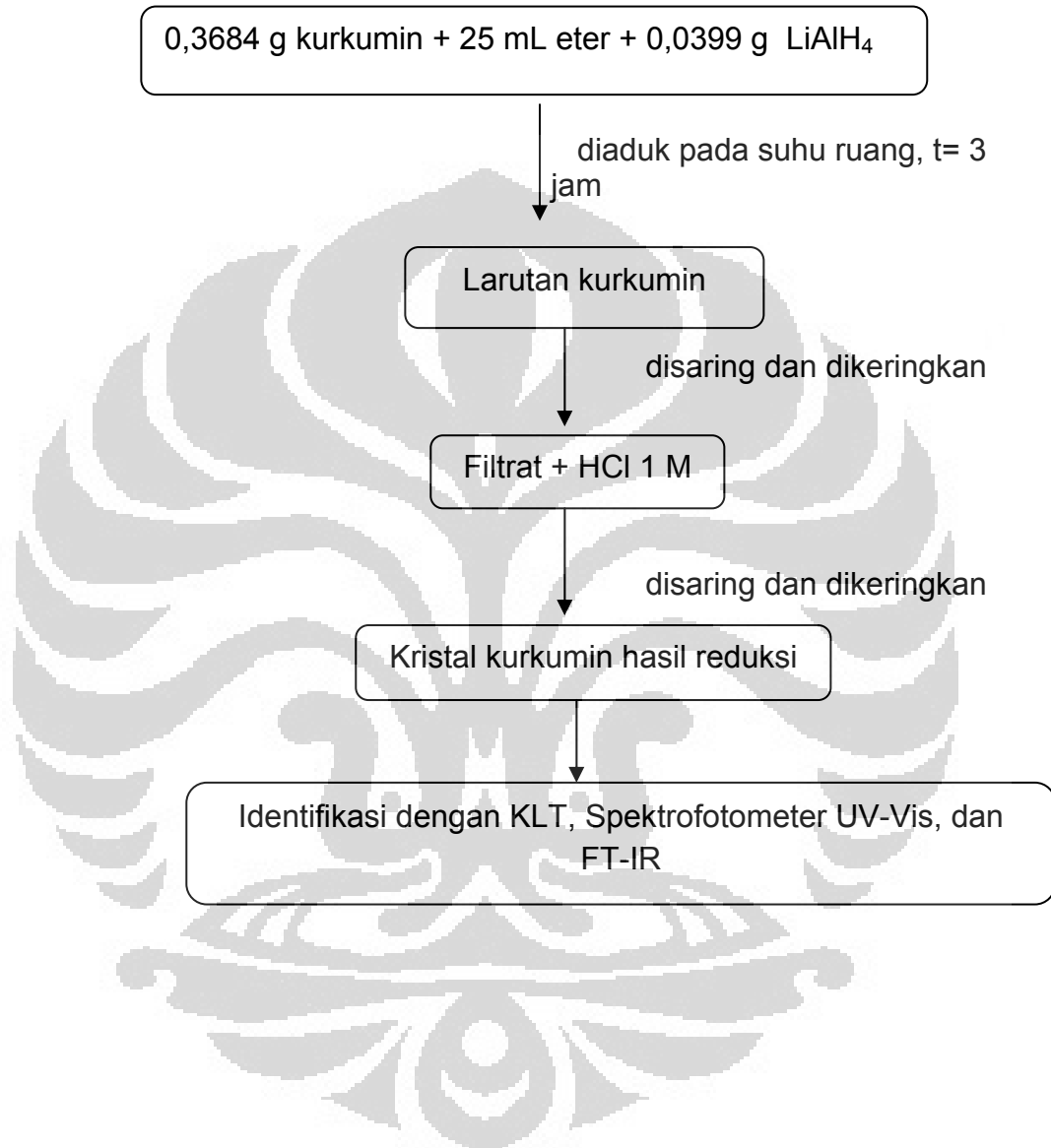
A_{kontrol} = Absorbansi pada waktu awal (0 menit)

A_{sampel} = Absorbansi pada waktu 30 menit

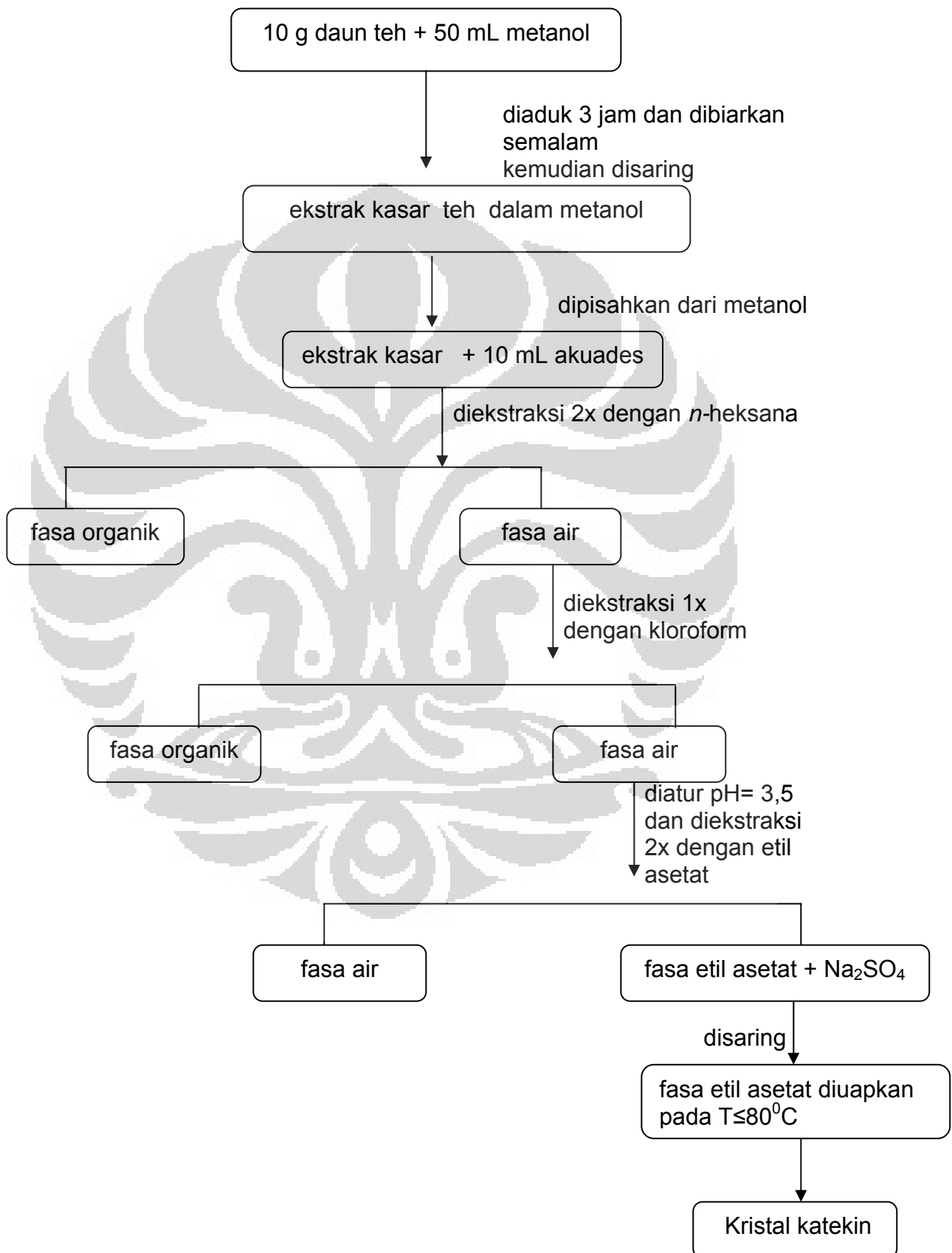
Nilai ini kemudian dimasukkan ke dalam persamaan linear ($y = ax + b$) dengan konsentrasi sebagai absis (x) sedangkan nilai inhibisi sebagai ordinatnya (y). Nilai IC_{50} dapat diperoleh pada saat nilai % inhibisi mencapai 50 %.

SKEMA KERJA

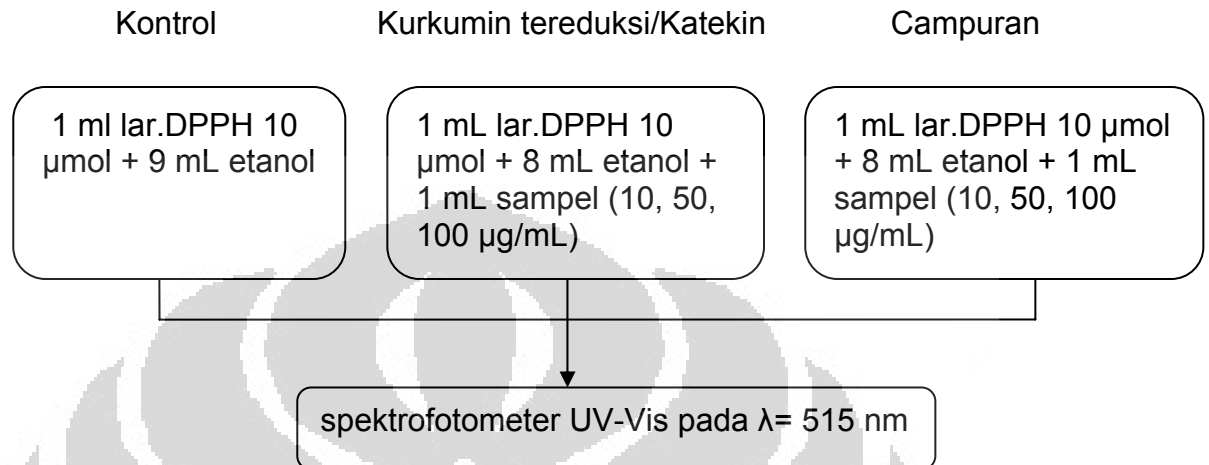
Pembuatan Kurkumin Hasil Reduksi



Isolasi Katekin dari Daun Teh (*Camellia sinensis*)



Uji Aktivitas Antioksidan



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Reduksi Kurkumin dengan LiAlH_4

Kurkumin merupakan senyawa yang terdapat di dalam tanaman kunyit atau temulawak. Kurkumin dapat diperoleh dengan cara mengekstrak kunyit maupun temulawak. Kurkumin berperan sebagai zat warna kuning pada tanaman kunyit, dan zat warna ini telah dimanfaatkan baik untuk kebutuhan rumah tangga maupun industri. Adanya warna kuning ini disebabkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dalam jumlah yang cukup banyak pada struktur kurkumin seperti halnya pada karotenoid.

Kurkumin sendiri merupakan pigmen atau zat pemberi warna yang tidak larut dalam air pada pH asam atau netral, tetapi larut di air jika pHnya bersifat basa. Kurkumin stabil terhadap temperatur yang tinggi tetapi senyawa ini tidak stabil terhadap cahaya. Kurkumin dapat terdegradasi pada pH di atas pH netral. Produk degradasi kurkumin yang pertama, yaitu asam ferulat dan feruloil metan yang terbentuk segera setelah lima menit terjadinya proses hidrolisis. Feruloil metan ini dapat terdegradasi lagi menjadi produk lain, yaitu vanillin dan aseton. Karena kurkumin sensitif terhadap pH tinggi maka pengerjaannya perlu memperhatikan pH larutan agar selalu berada dalam keadaan netral maupun sedikit asam.

Warna pada suatu senyawa disebabkan adanya suatu gugus kromofor. Kromofor merupakan gugus tidak jenuh kovalen, yang menyebabkan serapan elektronik. Warna dari suatu gugus kromofor dapat diperlemah atau diperkuat dengan adanya substituen yang terikat pada kromofor, walaupun substituen tersebut tidak menimbulkan warna. Substituen yang terikat pada kromofor tersebut disebut auksokrom.

Pada senyawa kurkumin, gugus kromofornya berupa benzena, gugus etenil, gugus karbonil, sedangkan yang bertindak sebagai gugus auksokromnya adalah gugus metoksi dan gugus hidroksil. Adanya ikatan rangkap terkonjugasi juga dapat menimbulkan warna. Semakin banyak ikatan rangkap terkonjugasi akan menambah panjang gelombang yang diserap. Hal inilah yang menyebabkan senyawa kurkumin memberikan warna kuning.

Senyawa kurkumin telah banyak diteliti sebelumnya dan terbukti mengandung zat antioksidan yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Komponen pemberi warna pada kurkumin ini merupakan antioksidan yang dikenal efektif untuk bahan makanan, karena mencegah makanan menjadi basi. Kurkumin menarik untuk diteliti karena memiliki aktivitas antioksidan yang cukup besar dan telah terbukti delapan kali lebih besar dibanding vitamin E. Selain itu, kurkumin juga lebih efektif dalam menghambat pembentukan lipid peroksida dibandingkan dengan antioksidan sintetik seperti BHT.

Mekanisme antioksidan kurkumin, terjadi dengan cara kurkumin menangkap radikal bebas, kemudian diubah menjadi radikal “second hand” yang tidak reaktif, serta tidak berbahaya bagi kesehatan. Hal ini dikarenakan senyawa kurkumin termasuk dalam golongan senyawa polifenol dan sudah banyak penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa golongan senyawa polifenol, dapat digunakan sebagai zat antioksidan. Tetapi ada pula yang menyatakan, bahwa aktivitas antioksidan kurkumin melibatkan ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus karbonil serta gugus para hidroksi.

Pada struktur kurkumin, terdapat dua gugus keton yang dalam penelitian kali ini yang akan direduksi menjadi gugus $-OH$. Reaksi reduksi dilakukan dengan menggunakan reduktor $LiAlH_4$ atau Lithium Aluminium Hidrida. Reaksi reduksi biasanya terjadi pada suhu kamar atau di bawahnya, berlangsung cepat dan tanpa menghasilkan reaksi samping. Reduktor LAH merupakan reduktor yang paling kuat untuk mereduksi gugus keton dan aldehida sederhana menjadi alkohol, dibandingkan dengan $NaBH_4$, hal ini disebabkan karena ikatan Al-H lebih lemah daripada ikatan B-H. Akan tetapi reduktor ini sensitif terhadap uap air sehingga dalam penggunaannya perlu dihilangkan terlebih dahulu uap airnya dengan cara mengalirkan gas nitrogen.

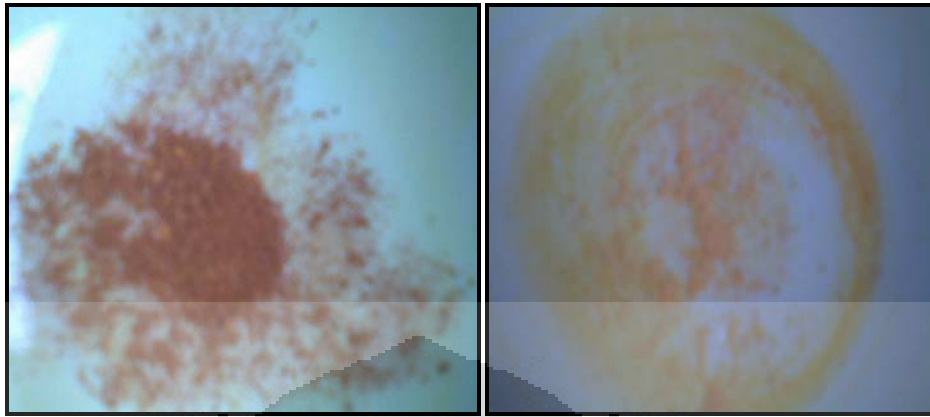
Pada tahap awal, kurkumin terlebih dahulu dilarutkan ke dalam dietil eter. Setelah kurkumin larut sempurna dalam dietil eter, baru kemudian ditambahkan $LiAlH_4$. Penggunaan pelarut dietil eter karena pelarut ini dapat melarutkan kedua bahan tersebut dan $LiAlH_4$ memiliki kelarutan yang lebih

besar pada dietil eter, yaitu 5,92 mol/L dibandingkan dengan menggunakan pelarut THF yang hanya 2,96 mol/L, namun kendalanya pelarut dietil eter lebih cepat menguap dibandingkan dengan pelarut THF. Oleh karena itu, pengerjaannya harus dilakukan dengan cepat dan reaksi reduksi ini harus dilakukan dalam wadah yang tertutup untuk mencegah penguapan dietil eter.

Reaksi yang terjadi pada proses reduksi ini adalah, LiAlH_4 akan melepaskan ion Hidride (H^-) yang akan menyerang atom C karbonil pada kurkumin, karena pada umumnya ion negatif cenderung menyerang ion positif dan bukan sebaliknya. Ion hidride lebih memilih menyerang atom C karbonil dibandingkan dengan karbon C pada gugus etenil karena atom C karbonil lebih bersifat positif dengan adanya atom O sebagai penarik elektron.

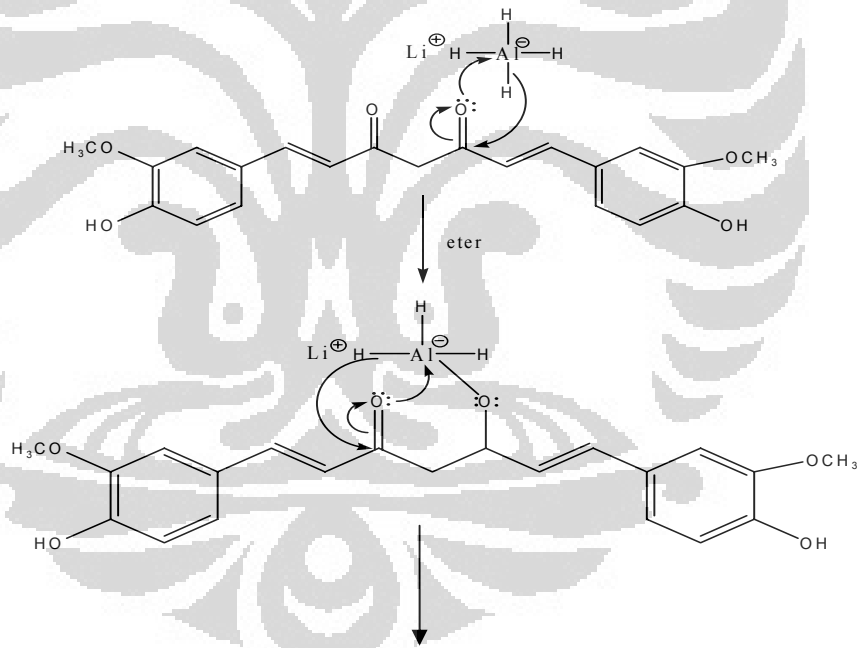
Setelah proses pengadukan berlangsung selama 3 jam, filtrat dipisahkan dari endapannya dengan cara disaring menggunakan kertas saring biasa karena endapan yang dihasilkan memiliki ukuran partikel yang cukup besar. Kemudian filtrat dibiarkan menguap hingga terbentuk kristal, dan kristal tersebut dicuci dengan menggunakan larutan HCl 1 M, untuk membebaskan kurkumin tereduksi dari bentuk kompleks logam alkoksida. Hal ini karena, larutan asam encer ini akan mendonorkan ion H^+ , sehingga akan terbentuk gugus $-\text{OH}$ pada struktur kurkumin. Hasil yang di dapat berupa padatan berwarna jingga agak lebih gelap dibandingkan dengan standar kurkumin dengan berat 0,27 g dengan % rendemen sebesar 73,55 % (mol/mol).

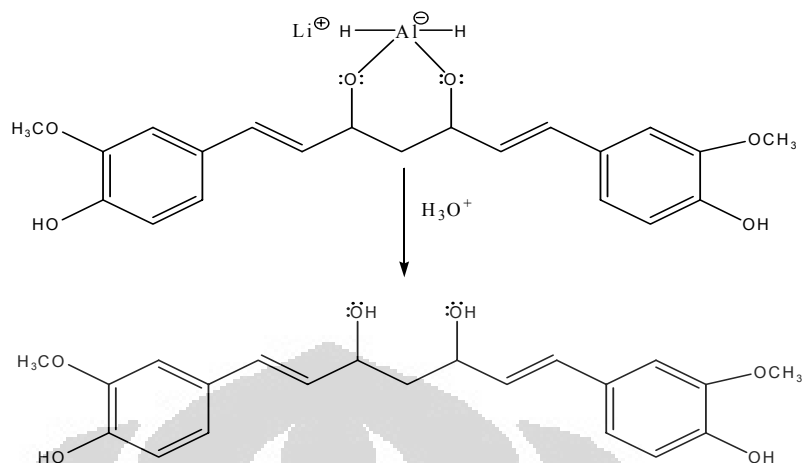
Padatan yang diperoleh seharusnya memiliki warna yang lebih pudar dibanding dengan standar kurkumin. Hal ini karena dengan dilakukannya reduksi terhadap gugus karbonil menjadi hidroksil, maka akan mengurangi jumlah ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus kromofor yang terdapat dalam kurkumin. Oleh karena padatan yang diperoleh berwarna lebih gelap dibanding standar kurkumin, maka disimpulkan bahwa padatan yang diperoleh bukan merupakan kurkumin tereduksi yang murni, tetapi masih dalam bentuk campuran. Hal ini kemungkinan karena reaksi reduksi kurang sempurna, akibat reduktor yang kualitasnya sudah menurun, sehingga masih ada zat awal yang tersisa. Selain itu, kemungkinan hal ini disebabkan juga karena adanya pengotor-pengotor yang mengontaminasi padatan. Oleh karena itu perlu dilakukan pemurnian terlebih dahulu sebelum dilakukan identifikasi agar tidak terjadi salah interpretasi. Pemurnian padatan dilakukan dengan metode KLT preparatif. Padatan yang diperoleh setelah pemurnian menjadi lebih sedikit dan memiliki warna yang lebih pudar dibanding standar kurkumin. sehingga dapat dikatakan padatan yang diperoleh sudah cukup murni.



Gambar 4.1. Kurkumin tereduksi sebelum dan setelah dimurnikan

Reaksi yang terjadi pada reduksi kurkumin :





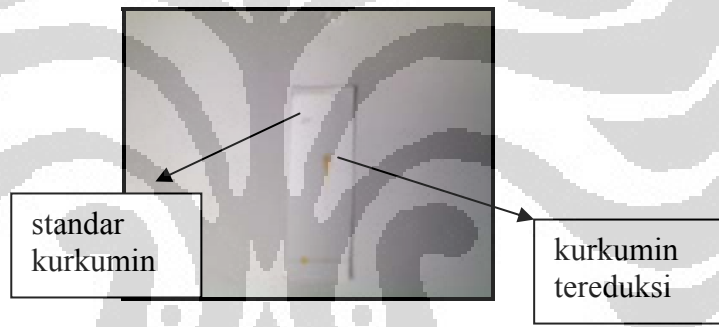
Gambar 4.2. Mekanisme Reaksi Reduksi

Padatan kurkumin tereduksi yang diperoleh setelah pemurnian, kemudian diidentifikasi pertama kali dengan menggunakan KLT, untuk mengetahui apakah zat yang terbentuk tunggal atau masih berupa campuran. Dari hasil uji KLT, hanya terdapat satu spot yang menandakan bahwa senyawa yang terbentuk tunggal. Sedangkan untuk hasil pengukuran nilai R_f diperoleh sebesar 0,65. Nilai ini lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai R_f standar kurkumin yang nilainya 0,70.

Hal ini dikarenakan pada senyawa kurkumin yang telah direduksi, polaritasnya meningkat seiring dengan bertambahnya gugus hidroksil hasil reduksi karbonil pada struktur kurkumin. Karena fasa gerak yang digunakan bersifat non polar, yaitu campuran *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 9:7, maka standar kurkumin yang non polar tidak ditahan oleh fasa diam dan akan terbawa oleh fasa gerak, sehingga nilai R_fnya lebih

besar. Sedangkan kurkumin tereduksi yang lebih polar akan tertahan pada fasa diam yang juga polar yaitu silika gel.

Setelah dilakukan identifikasi dengan uji KLT, maka dapat dilakukan identifikasi selanjutnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR. Dari hasil uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{max}) 430 nm. Nilai ini tidak berbeda terlalu jauh dari nilai serapan pada standar kurkumin yaitu, $\lambda = 422$ nm. Adanya pergeseran ini dapat disebabkan akibat pengaruh substistusi atau pelarut.



Gambar 4.3. Hasil Uji KLT Kurkumin tereduksi

Pada identifikasi menggunakan spektroskopi FT-IR, karena sampelnya berupa padatan, maka dibuat pelet dengan cara menggerus sedikit sampel dengan sedikit kristal KBr. Hasil yang diperoleh dari pengukuran dengan FT-IR adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1. Pita-pita Serapan Spektrum FT-IR Kurkumin Hasil Reduksi

Kurkumin tereduksi ν (cm^{-1})	Analisis	Kisaran bilangan gelombang ν (cm^{-1})
3515,13	Vibrasi ulur -OH	3620-3000
1628,12	Regangan C=C terkonjugasi	1670-1600
1427,96	Lenturan -CH ₃	1475-1300
1252,62	Gugus -OCH ₃ aromatik	1275-1200

Pada bilangan gelombang, $\nu = 3515,13 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi ulur dari ikatan intramolekular dari gugus -OH, selain itu karena serapannya cukup tajam dan ada pada kisaran $3600-3500 \text{ cm}^{-1}$, maka dapat diperkirakan telah terbentuknya polivalen alkohol (gugus -OH) yang lebih dari satu dan berdekatan seperti contoh 1,2-diol¹⁸. Selain itu turunnya intensitas pada %T dari 26% menjadi 10% menandakan adanya penambahan gugus -OH dan berkurangnya gugus -CO. Berdasarkan analisis, kemungkinan belum seluruh gugus keton yang ada telah tereduksi sempurna menjadi gugus-OH, hal ini terlihat dari masih munculnya nilai serapan untuk C=O di daerah bilangan gelombang, $\nu = 1627,63 \text{ cm}^{-1}$. Akan tetapi, intensitas serapan untuk gugus karbonil telah berkurang setelah direduksi, hal ini menunjukkan bahwa LAH telah berhasil mereduksi karbonil yang ada pada

kurkumin ,walaupun tidak seluruhnya tereduksi. Serapan pada bilangan gelombang , $\nu = 1627,63\text{cm}^{-1}$ juga dapat menandakan adanya regangan (stretching) dari C=C aromatik.

Selain itu regangan C=C alifatik yang masih ada pada struktur kurkumin tereduksi pun masih terlihat pada bilangan gelombang, $\nu = 1510,69\text{cm}^{-1}$. Hal ini membuktikan bahwa LiAlH_4 hanya mampu mereduksi gugus karbonil sederhana saja pada struktur kurkumin, dan tidak dapat mereduksi ikatan rangkap baik aromatik maupun alifatik. Kemudian juga muncul serapan yang cukup kuat pada bilangan gelombang, $\nu = 1282,19\text{cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus eter aromatik yang muncul pada bilangan gelombang antara $1300\text{-}1000\text{cm}^{-1}$ ²¹. Hal ini disebabkan karena adanya dua gugus metoksi yang berikatan pada masing-masing gugus fenolik pada kurkumin.

Adapun syarat agar pita serapan inframerah tampak jelas adalah¹⁸ :

1. Terjadi perubahan momen dwikutub molekul selama getaran.
2. Frekuensi pita tidak berimpit dengan getaran utama lainnya (tingkat energi yang sama).
3. Absorpsi terjadi di daerah inframerah.
4. Intensitas absorpsi cukup kuat untuk dideteksi.

4.2. Isolasi katekin dari Daun Teh (*Camellia sinensis*)

Senyawa katekin yang berasal dari daun teh merupakan sumber yang potensial dari senyawa antikanker. Senyawa ini telah banyak diteliti dan telah terbukti memiliki banyak aktivitas biologis yang berguna bagi kesehatan

manusia. Dalam penelitian ini digunakan metodologi ekstraksi pelarut dan partisi untuk memperoleh katekin dari daun teh. Kondisi optimum dari percobaan diperoleh dengan mengoptimalkan faktor teknis, misalnya pelarut, waktu ekstraksi dan suhu.

Pada isolasi senyawa katekin ini, digunakan pelarut metanol.

Pemilihan pelarut metanol karena senyawa katekin larut di dalamnya, selain itu metanol dapat mengekstrak katekin dalam jumlah yang lebih banyak. Untuk tahap awal, sebanyak 10 g daun teh kering direndam dalam 50 mL metanol dan diaduk selama 3 jam pada suhu ruang. Pengadukan dilakukan dalam wadah tertutup untuk menjaga volume metanol agar tidak berkurang karena menguap. Ekstrak kemudian didiamkan semalaman agar katekin yang terekstrak ke dalam metanol lebih optimal.

Setelah dilakukan ekstraksi daun teh dengan metanol, kemudian dilakukan pemisahan metanol dengan ekstrak katekin kasar. Tetapi sebelumnya perlu dilakukan penambahan akuades secukupnya untuk menjaga volume katekin. Pemisahan katekin dan metanol dilakukan dengan menggunakan *rotatory evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar katekin. Ekstrak katekin kasar ini dipartisi dengan kloroform yang berguna untuk memisahkan kafein dari ekstrak. Kemudian dilakukan ekstraksi sebanyak dua kali dengan menggunakan *n*-heksana untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang bersifat non polar. Ekstrak kemudian diasamkan hingga pH 3-4 (optimalnya 3,5) dengan asam fosfat dan ditambahkan garam yang non-toksik, yaitu NaCl atau dapat juga KCl. Pengaturan pH dan penambahan

garam dimaksudkan untuk memberikan efek salting out pada katekin dari fasa air. Selanjutnya ekstrak disaring untuk memisahkan ekstrak katekin dengan garam. Lebih jauh, hasil ekstrak dipartisi lagi dengan etil asetat sebanyak dua kali untuk lebih memurnikan senyawa katekin yang berupa *epicatechin* (EC), *epicatechin gallat* (ECG), *epigallocatechin* (EGC), *epigallocatechin gallat* (EGCG), *catechin* dan *gallocatechin* (GC). Selain itu juga dilakukan penambahan Na_2SO_4 anhidrat ke dalam fasa etil asetat. Na_2SO_4 anhidrat ini berfungsi sebagai penarik air. Karena kemungkinan selama ekstraksi, pemisahan yang dilakukan lewat corong pisah kurang sempurna, sehingga masih ada air yang terbawa dalam fasa etil asetat.



Gambar 4.4 Ekstrak Katekin dalam etil asetat

Untuk memperoleh kristal katekin, maka etil asetat diuapkan pada $T \leq 80^\circ\text{C}$. Padatan yang diperoleh berwarna coklat muda sebanyak 0,47 g atau sebesar 4,73 % (mol/mol). Kristal katekin yang diperoleh ini harus disimpan pada suhu penyimpanan 4-8 $^\circ\text{C}$, karena apabila dibiarkan pada suhu ruangan maka kristal katekin akan cepat menjadi rusak.



Gambar 4.5 Kristal Katekin Hasil Isolasi

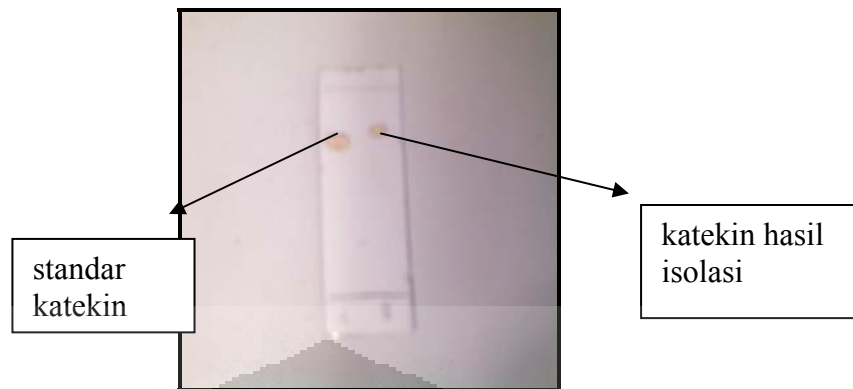
Sebelum dilakukan identifikasi, maka dilakukan uji pendahuluan dengan menggunakan larutan *Folin ciocalteau*. Larutan ini dapat digunakan sebagai identifikasi awal ada atau tidaknya flavonoid, khususnya katekin dalam ekstrak bahan alam. Uji pendahuluan dilakukan dengan meneteskan larutan *Folin ciocalteau* pada kristal hasil isolasi yang dilarutkan dalam etil asetat. Ternyata timbul warna biru yang menunjukkan bahwa kristal tersebut benar merupakan katekin.

Pemurnian kristal katekin dapat dilakukan dengan menggunakan karbon aktif dan tanah pemucat (*bleaching earth*) atau gabungan keduanya. Berdasarkan penelitian sebelumnya, metode pemurnian yang disarankan yaitu dengan menggunakan gabungan antara karbon aktif dan tanah pemucat (*bleaching earth*), akan tetapi dalam penelitian ini tidak dilakukan pemurnian karena ternyata setelah dilakukan pemurnian lebih lanjut, aktivitas antioksidan dari katekin menurun. Hal ini kemungkinan disebabkan karena selama proses pemurnian, banyak senyawa polifenol yang hilang, sehingga

apabila dibandingkan antara kristal yang belum dimurnikan dan kristal yang sudah dimurnikan maka kristal yang sudah dimurnikan akan mempunyai aktivitas antioksidan yang kecil .

Padatan yang diperoleh dari hasil isolasi selanjutnya diidentifikasi pertama kali dengan menggunakan uji KLT. Dari hasil uji KLT, hanya terdapat satu spot yang menandakan bahwa senyawa yang diisolasi tunggal. Untuk hasil pengukuran nilai Rf diperoleh sebesar 0,50. Nilai ini sama jika dibandingkan dengan nilai Rf standar katekin yang nilainya 0,50. Nilai Rf dari standar katekin dan katekin hasil isolasi yang kecil kemungkinan disebabkan karena banyaknya gugus fenolik. Sehingga baik standar katekin maupun kristal katekin hasil isolasi tidak terbawa lebih jauh oleh larutan pengembang yang cenderung bersifat non polar. Dalam hal ini digunakan aseton : toluene = 2:7. Karena nilai Rf katekin hasil isolasi yang sama dengan Rf standar katekin maka dapat dikatakan senyawa katekin telah berhasil diisolasi dari teh hijau. Untuk lebih meyakinkan dilakukan identifikasi lebih lanjut dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR, dan uji titik leleh.

Dari hasil uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang (λ_{max}) 280 nm. Nilai ini sama dengan nilai serapan pada standar katekin yaitu 280 nm.



Gambar 4.6. Hasil Uji KLT Katekin

Pada identifikasi menggunakan spektroskopi FT-IR, sampel dan standar katekin juga dibuat pellet sebelum dilakukan pengukuran. Analisa dengan spektrofotometer FT-IR ini memberikan spectrum berupa pita-pita serapan yang karakteristik untuk gugus-gugus fungsional tertentu yang ada pada sampel yang diukur. Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut :

Tabel 4.2. Pita-pita Serapan Spektrum FT-IR K atekin Hasil Isolasi

Katekin isolasi pita serapan ν (cm^{-1})	Katekin standar pita serapan ν (cm^{-1})	Gugus fungsi
3381,28	3353,17	Vibrasi dari -OH
1628,10	1611,10	C=C konjugasi

Analisis dengan spektroskopi FT-IR dilakukan baik untuk standar katekin maupun katekin hasil isolasi. Ternyata dari hasil spektra FT-IR, keduanya menunjukkan kemiripan yang cukup besar, walaupun tidak banyak

muncul pita-pita serapan yang kuat. Serapan yang muncul di daerah bilangan gelombang, $\nu = 3100-3500 \text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi ulur (*stretching*) dari gugus -OH intermolecular. Hal ini ditunjukkan oleh sampel dan standar katekin dengan serapan pada bilangan gelombang $\nu = 3381,28$ dan $3353,17 \text{ cm}^{-1}$. Pita serapan lain yang muncul pada bilangan gelombang, $\nu = 1628,10$ dan $1611,10 \text{ cm}^{-1}$, menunjukkan adanya regangan C=C aromatic.

Untuk lebih meyakinkan lagi dilakukan uji titik leleh pada sampel katekin hasil isolasi dan diperoleh titik lelehnya sebesar $174-176,5 \text{ }^\circ\text{C}$. Dari literatur diketahui bahwa titik leleh katekin sebesar $175-177 \text{ }^\circ\text{C}$ ²¹. Dilihat dari titik lelehnya dapat disimpulkan katekin yang diperoleh dari isolasi cukup murni.

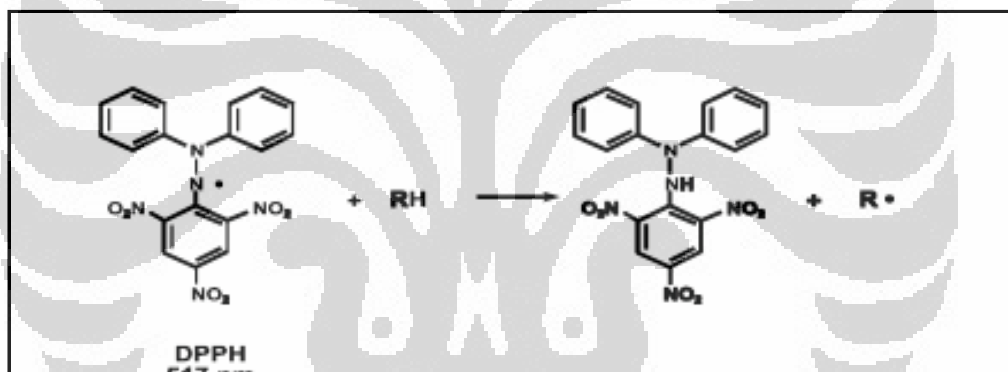
Karena katekin merupakan salah satu antioksidan yang potensial maka selama ini terus dilakukan penelitian untuk dapat menghasilkan katekin murni dengan cepat. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan *supercritical fluid*. Akan tetapi metode ini masih belum banyak digunakan jika dibandingkan dengan metode ekstraksi pelarut.

4.3. Uji aktivitas Antioksidan

Pada pengukuran uji aktivitas antioksidan digunakan metode *radical scavenger* yang menggunakan penurunan intensitas serapan larutan DPPH pada spektrofotometer UV-Vis. Metode pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan DPPH telah ditemukan sejak tahun 1958 oleh Marsden Blois seorang pengajar dari Stanford University¹⁶. Metode ini digunakan

pertama kali dalam percobaan pengujian aktivitas antioksidan dari asam amino sistein.

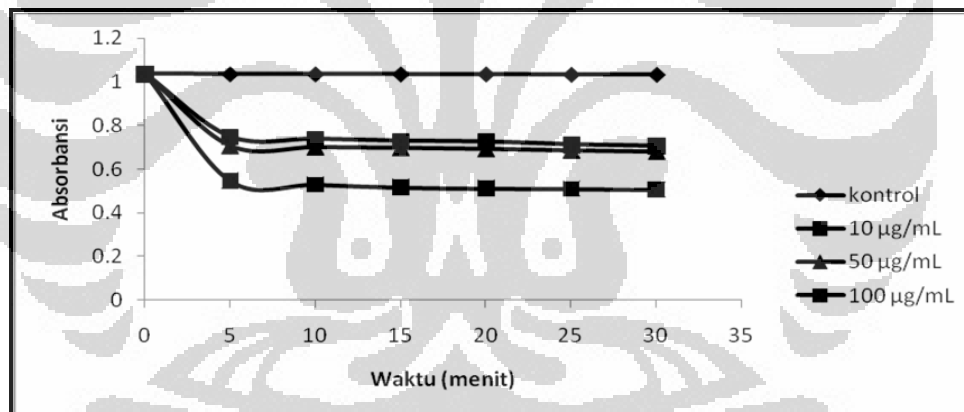
Sebagai indikator telah terjadi penurunan intensitas serapan DPPH ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada sampel yaitu dari ungu kebiruan menjadi kuning untuk sampel kurkumin reduksi sedangkan katekin dari ungu kebiruan menjadi bening. Perubahan warna ini diakibatkan oleh DPPH yang dapat menangkap $H\cdot$. Terjadinya penangkapan radikal tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan absorbansi setelah penambahan sampel³.



Gambar 4.7. Mekanisme Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Larutan DPPH merupakan radikal bebas yang cukup stabil dan memberikan serapan maksimum pada $\lambda = 515 \text{ nm}$. Pengukuran dilakukan dengan menambahkan larutan DPPH $10\mu\text{M}$ ke dalam larutan sampel yang masing-masing telah divariasikan konsentrasinya yaitu $10\mu\text{g/mL}$, $50\mu\text{g/mL}$, dan $100\mu\text{g/mL}$. Larutan sampel terdiri dari lima jenis larutan yaitu larutan kurkumin tereduksi, larutan katekin serta larutan yang berisi campuran

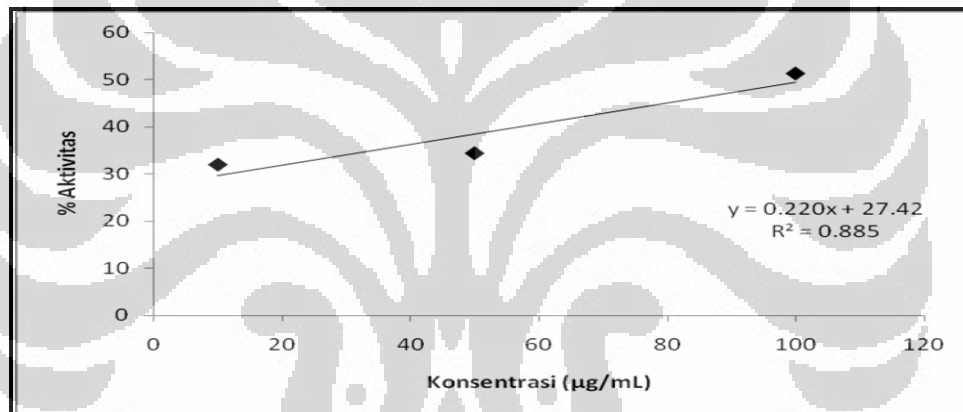
kurkumin dan katekin dengan perbandingan 1:1, 1:10, dan 10:1 per konsentrasinya masing-masing. Jadi ada limabelas variasi sampel yang akan diukur aktivitas antioksidannya. Sebagai pembanding akan diukur pula larutan kontrol yang hanya berisi larutan DPPH saja. Penggunaan kontrol, ini penting karena akan digunakan sebagai pembanding agar dapat diketahui perbedaan antara larutan yang diberi perlakuan penambahan sampel dengan larutan yang tidak ditambahkan sampel. Baik DPPH maupun sampel semuanya dilarutkan dalam pelarut etanol. Sampel diukur mulai dari 0 menit sampai 30 menit dengan interval pengukuran tiap 5 menit sekali.



Grafik 4.1. Aktivitas Antioksidan Kurkumin Reduksi

Dari hasil pengukuran diperoleh data diperoleh kecenderungan bahwa semakin besar konsentrasi sampel, maka semakin kecil nilai absorbansi yang diberikan. Untuk larutan kontrol sendiri tidak ada penurunan nilai absorbansi yang signifikan, bahkan grafik seperti tidak terlihat adanya

penurunan atau tetap. Dapat dikatakan bahwa larutan kontrol memiliki nilai absorbansi yang cukup konstan. Dari perhitungan selanjutnya didapatkan IC_{50} untuk senyawa kurkumin hasil reduksi sebesar $102.63 \mu\text{g/mL}$. Berarti senyawa kurkumin tereduksi aktivitas antioksidannya kurang begitu bagus karena pada konsentrasi $102.63 \mu\text{g/mL}$ baru 50% radikal bebas yang ternetralkan. Berikut ini merupakan grafik garis linear dari kurkumin tereduksi untuk konsentrasi 10, 50, dan $100 \mu\text{g/mL}$.



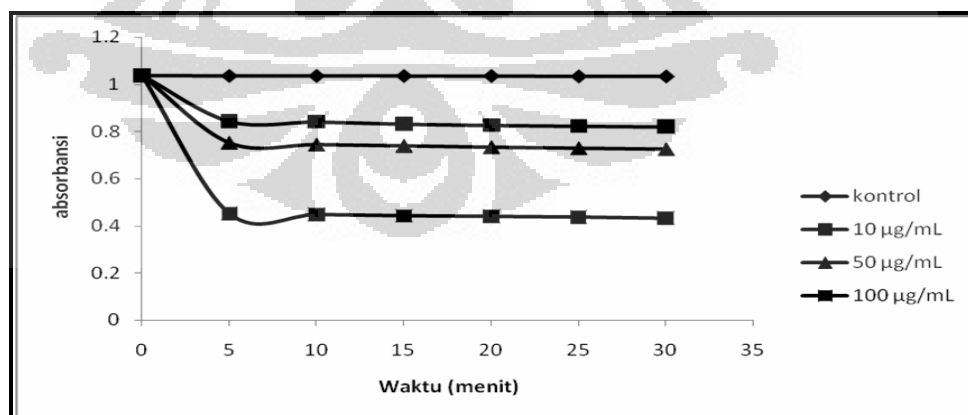
Gambar 4.8. IC_{50} dari Kurkumin Hasil Reduksi

Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk sampel katekin hasil isolasi. Ternyata hasil pengukuran yang didapat adalah hampir sama dengan sampel kurkumin hasil reduksi jika dilihat dari segi penurunan nilai absorbansi di setiap penambahan konsentrasi Akan tetapi yang membedakan adalah adanya perbedaan cukup signifikan yang terlihat pada nilai IC_{50} katekin hasil isolasi jika dibandingkan dengan nilai dari kurkumin

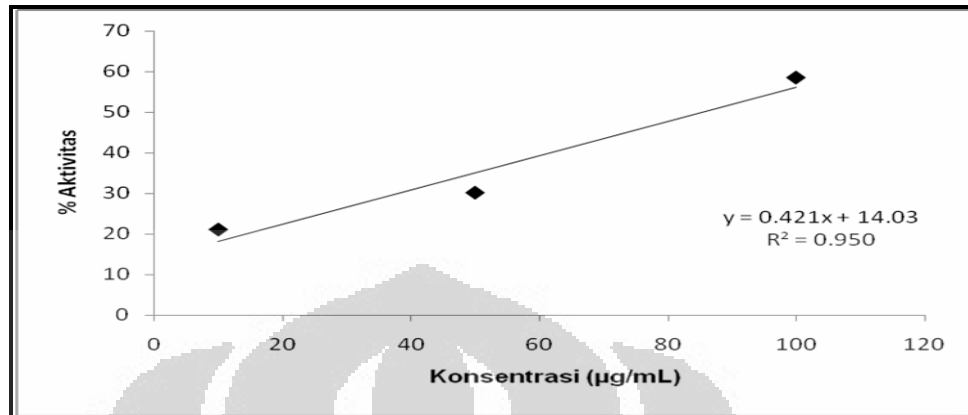
hasil reduksi, yaitu sebesar 85,44 $\mu\text{g/mL}$. Jadi, aktivitas antioksidan katekin hasil isolasi lebih besar dibandingkan dengan aktivitas antioksidan kurkumin tereduksi.

Hal ini disebabkan karena pada struktur katekin terdapat lebih banyak gugus fenolik sehingga dapat menetralkan radikal bebas lebih banyak dibandingkan kurkumin tereduksi pada konsentrasi yang sama. Dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan dari katekin hasil isolasi ini lebih baik dibandingkan dengan kurkumin tereduksi. Namun walaupun nilai IC_{50} nya lebih kecil, tapi senyawa kurkumin tereduksi bisa dikatakan tetap memiliki kemampuan sebagai *radical scavenger*.

Pada grafik terlihat bahwa katekin hasil isolasi memberikan nilai absorbansi yang lebih rendah dibanding dengan kurkumin tereduksi, hal ini mungkin disebabkan oleh senyawa katekin yang cukup stabil dalam menangkap radikal bebas yang diberikan oleh senyawa DPPH. Untuk grafik garis linearnya dapat dilihat di bawah ini.



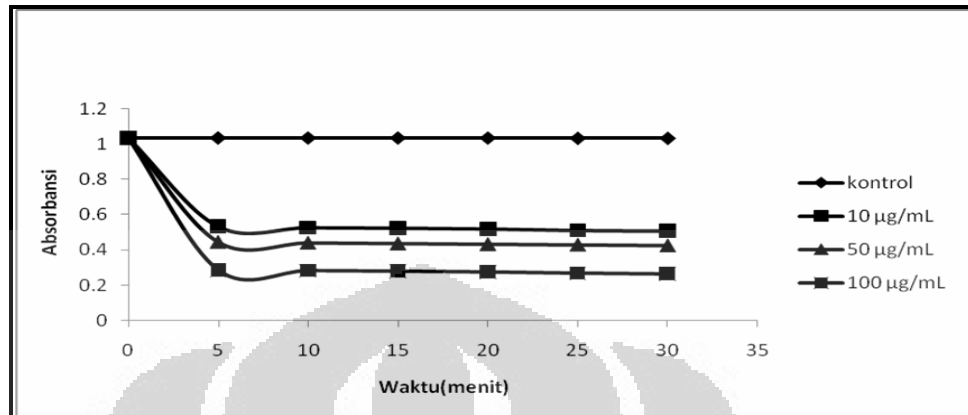
Grafik 4.2. Aktivitas Antioksidan Katekin Hasil Isolasi



Gambar 4.9. IC₅₀ dari Katekin Hasil Isolasi

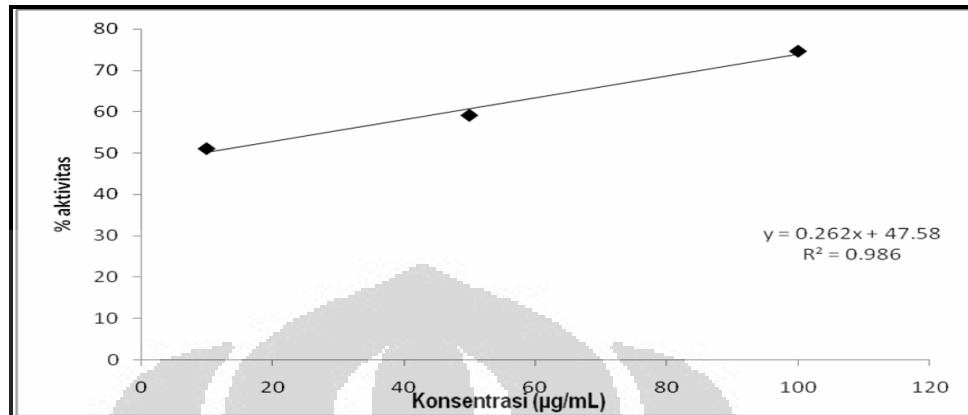
Selanjutnya dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan untuk campuran kurkumin tereduksi dan katekin hasil isolasi. Untuk campurannya sendiri dibuat tiga variasi yaitu campuran kurkumin dan katekin dengan perbandingan mol 1 :1, 1:10, dan 10:1. Pembuatan variasi ini dilakukan untuk mengamati sejauh mana pengaruh kedua antioksidan tersebut pada aktivitas antioksidan campuran jika perbandingan molnya sama atau jika salah satu antioksidan diperbesar molnya.

Ternyata dari ketiga variasi ini diperoleh hasil yang berbeda dengan kedua pengujian aktivitas antioksidan sebelumnya. Pada grafik campuran kurkumin hasil reduksi dan katekin dengan perbandingan 1:1 terdapat gambaran yang sangat berbeda dibandingkan dengan dua grafik sebelumnya, yaitu terjadi penurunan dari nilai absorbansi yang sangat jelas terlihat dibandingkan dengan nilai kontrol.



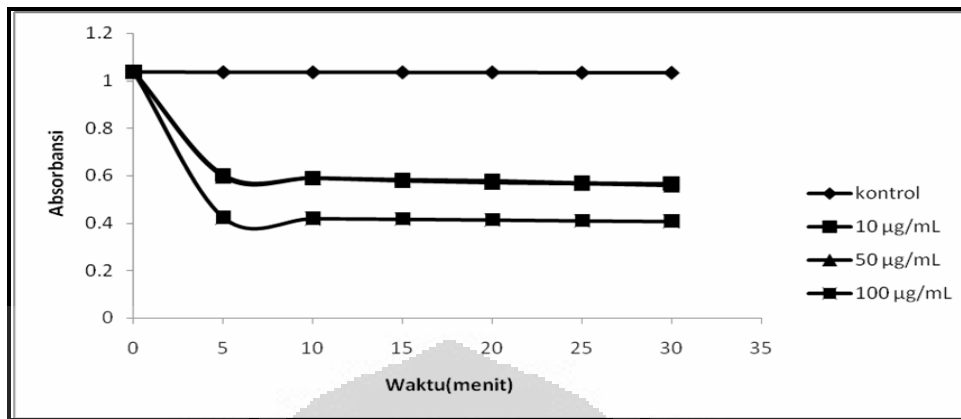
Grafik 4.3. Aktivitas Antioksidan Campuran Kurkumin Hasil Reduksi dan Katekin 1:1

Dari grafik di atas penurunan absorbansi cukup signifikan untuk setiap penambahan konsentrasi. Dari perhitungan diperoleh nilai IC_{50} untuk campuran katekin dan kurkumin 1:1 sebesar $8,55 \mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas katekin dan kurkumin jika digabungkan dengan perbandingan mol yang sama menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan aktivitas antioksidan masing-masing jika tidak digabungkan. Dapat dikatakan telah terjadi sinergisme antara kurkumin tereduksi dan katekin. Karena aktivitas antioksidan dari masing-masing katekin dan kurkumin tereduksi awalnya kurang baik tetapi setelah dilakukan pencampuran diperoleh aktivitas antioksidan yang jauh lebih baik. Berikut merupakan grafik linearitas dari campuran kurkumin dan katekin dengan perbandingan 1:1.



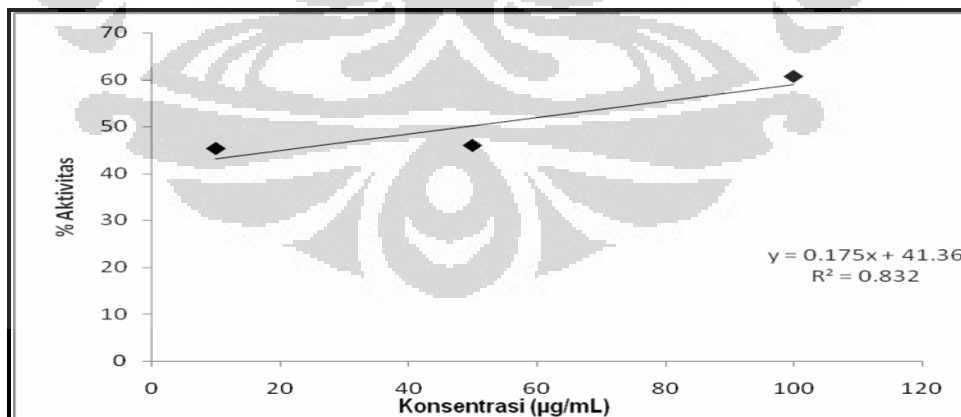
Gambar 4.10. IC₅₀ dari Campuran Kurkumin Hasil Reduksi dan Katekin Hasil Isolasi dengan Perbandingan mol 1:1

Untuk pengujian aktivitas antioksidan pada campuran kurkumin dan katekin dengan perbandingan mol 1:10 dan 10:1 tidak terdapat perbedaan yang cukup berarti baik pada penurunan absorbansi tiap penambahan konsentrasi maupun pada nilai IC₅₀. Penurunan absorbansi yang tidak begitu drastis menandakan bahwa aktivitas antioksidan dari kedua campuran tersebut tidak begitu besar. Akan tetapi, jika dibandingkan dengan sampel kurkumin dan katekin, maka aktivitas antioksidan kedua campuran tersebut cukup baik. Penambahan mol baik bagi kurkumin tereduksi maupun katekin dalam campuran ternyata tidak berpengaruh besar bagi aktivitas antioksidan campuran, dimana untuk campuran kurkumin dan katekin 1:10 diperoleh IC₅₀ sebesar 35,26 µg/mL dan untuk campuran kurkumin dan katekin 10:1 diperoleh IC₅₀ sebesar 49,37 µg/mL.



Grafik 4.4. Aktivitas Antioksidan Campuran Kurkumin Hasil Reduksi dan Katekin 10:1

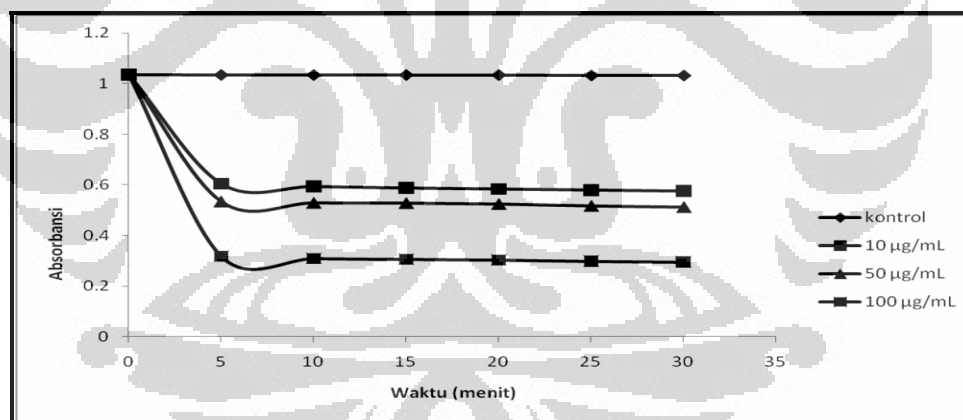
Pada perbandingan mol kurkumin dan katekin 1:10 diperoleh penurunan absorbansi yang tidak begitu besar dibanding dengan kontrol, tetapi nilai IC_{50} yang diperoleh lebih kecil dibanding sampel katekin dan kurkumin masing-masing. Hal ini berarti aktivitas antioksidan campuran dengan perbandingan mol 1:10 cukup baik.



Gambar 4.11. IC_{50} dari Campuran Kurkumin Hasil Reduksi dan Katekin Hasil Isolasi dengan Perbandingan mol 1:10

Pada perbandingan mol kurkumin dan katekin 10:1, diperoleh penurunan absorbansi yang juga tidak signifikan dibanding dengan kontrol, tetapi nilai IC_{50} yang diperoleh lebih kecil dibanding sampel campuran katekin dan kurkumin dengan perbandingan mol kurkumin dan katekin 1:10 .

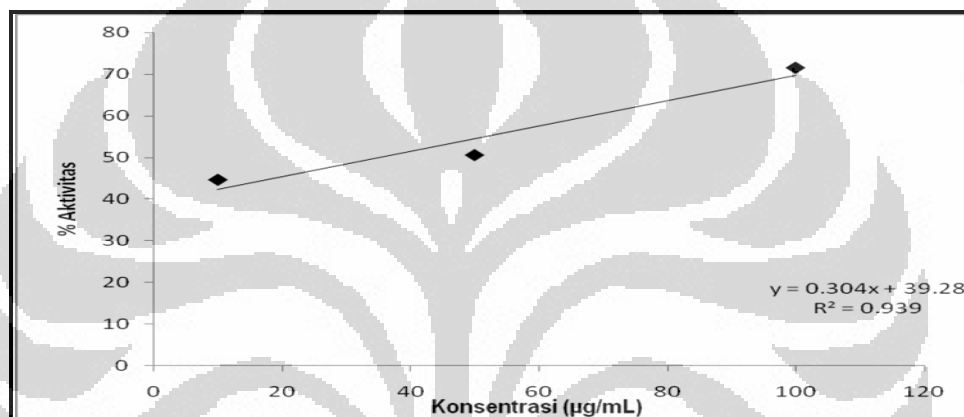
Penambahan mol kurkumin tidak begitu berpengaruh bagi aktivitas antioksidan campuran, karena nilai IC_{50} yang diperoleh masih cukup besar. Hal ini mungkin disebabkan karena pada penambahan mol kurkumin, gugus fenolik yang terdapat pada kurkumin tidak sebanyak yang terdapat pada katekin sehingga kemampuan penangkapan radikal oleh campuran tidak bertambah secara signifikan.



Grafik 4.5. Aktivitas Antioksidan Campuran Kurkumin Hasil Reduksi dan Katekin 1:10

Hal ini berarti aktivitas antioksidan campuran dengan perbandingan mol 10:1 lebih baik dibanding campuran dengan perbandingan mol 1:10. Hal

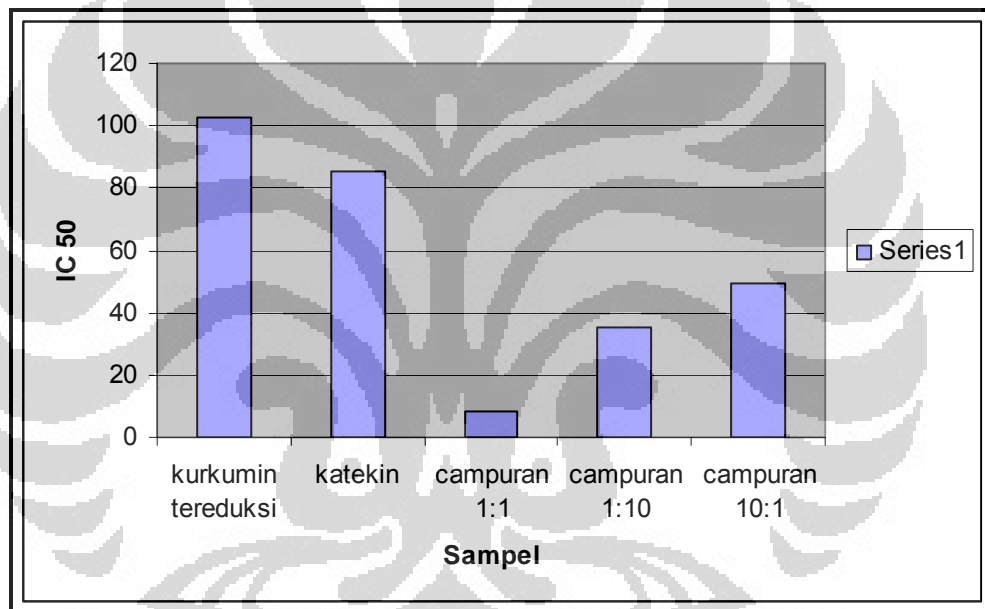
ini karena pada penambahan mol katekin maka kemampuan penangkapan radikal DPPH menjadi bertambah dimana gugus fenolik pada struktur katekin lebih banyak dibanding pada struktur kurkumin. Tetapi pengaruh penambahan mol katekin juga tidak begitu besar bagi aktivitas antioksidan campuran karena nilai IC_{50} yang diperoleh masih cukup besar yaitu .



Gambar 4.12. IC_{50} dari Campuran Kurkumin Hasil Reduksi dan Katekin Hasil Isolasi dengan Perbandingan mol 1:10

Diantara kelima variasi sampel, yang paling rendah adalah pada variasi sampel ketiga yaitu campuran kurkumin hasil reduksi dan katekin hasil isolasi 1:1. Jika dibuat urutan nilai absorbansi untuk variasi konsentrasi adalah $10 \mu\text{g/mL} < 50 \mu\text{g/mL} < 100 \mu\text{g/mL}$, sedangkan menurut variasi sampel adalah campuran kurkumin dan katekin 1:1 < campuran kurkumin dan katekin 1:10 < campuran kurkumin dan katekin 10:1 < katekin hasil isolasi < kurkumin hasil reduksi. Hal ini menunjukkan bahwa sinergisme pada antioksidan terjadi

pada campuran kurkumin hasil reduksi dan katekin hasil isolasi dengan perbandingan mol 1:1. Hal ditunjukkan oleh nilai absorbansi paling kecil yang diberikan oleh campuran tersebut yaitu sebesar 8,55 $\mu\text{g/mL}$ atau 10 kali lipat dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari katekin sebesar 85,44 $\mu\text{g/mL}$ dan 12 kali lipat dibandingkan dengan nilai IC_{50} kurkumin reduksi sebesar 102,63 $\mu\text{g/mL}$. Berikut merupakan hasil IC_{50} yang diperoleh dari pengukuran aktivitas antioksidan pada semua sampel.



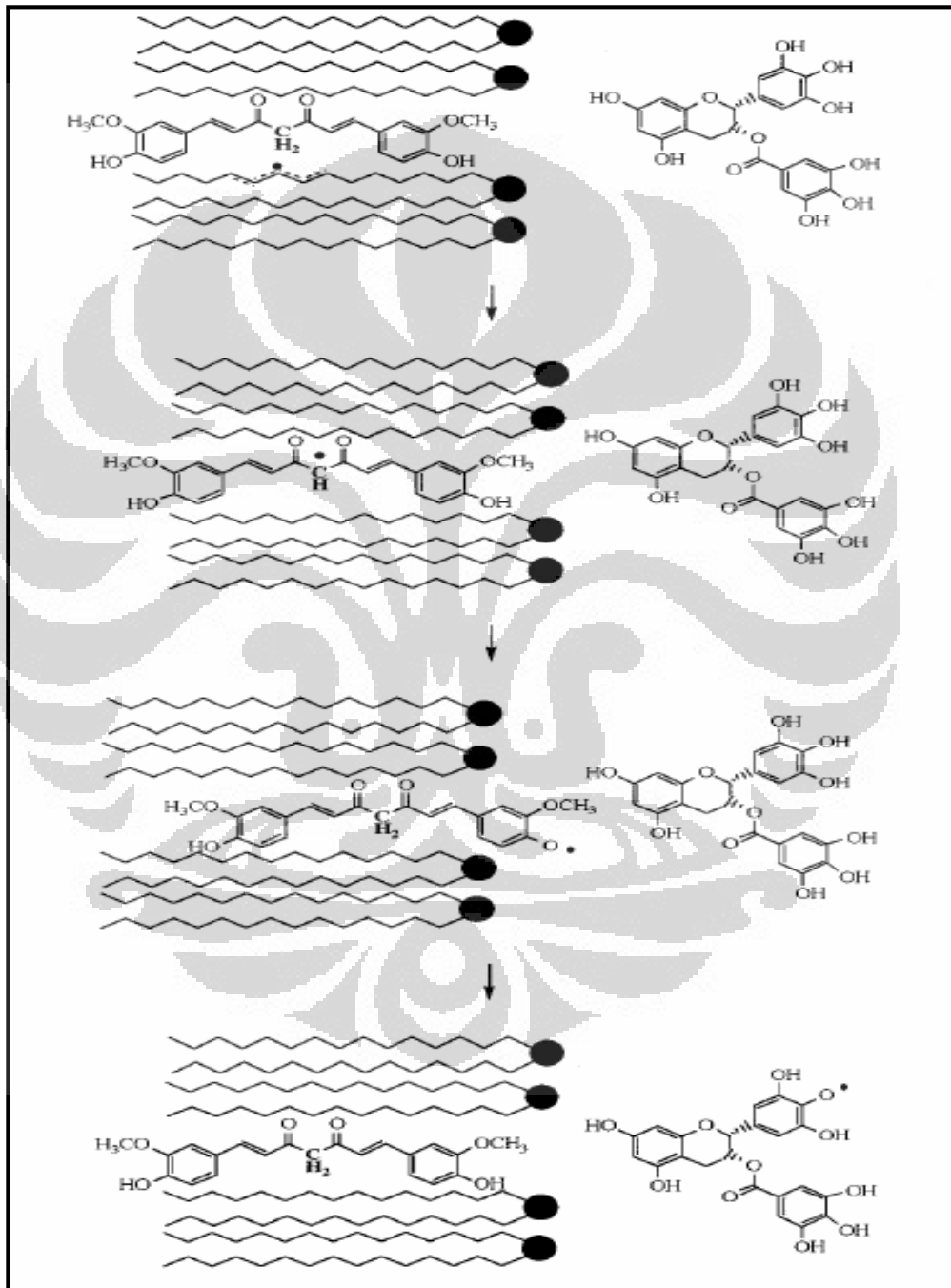
Gambar 4.12. IC_{50} dari kurkumin tereduksi, katekin, dan campuran

Kemudian hal selanjutnya yang dapat disimpulkan adalah pada sinergisme antioksidan ini, kurkumin hasil reduksi bertindak sebagai antioksidan sekunder atau disebut zat *synergist* karena nilai absorbansinya lebih tinggi dibandingkan dengan katekin hasil isolasi. Zat *synergist* yaitu zat yang bila dalam keadaan sendiri mempunyai aktivitas antioksidan yang kecil.

Sedangkan katekin bertindak sebagai antioksidan primer karena absorbansinya lebih rendah dibanding kurkumin tereduksi. Mekanisme sinergisme dari katekin dan kurkumin telah diteliti sebelumnya oleh Jovanovic dkk . Kurkumin memiliki kemampuan untuk menetralkan zat-zat kimia yang berpotensi sebagai karsinogen, misalnya ROS (*superoxide, peroxy, hydroxy radicals*) dan NOS(*nitric oxide, peroxy nitrite*) karena memiliki radikal fenoksil yang dapat menangkap radikal bebas. Mekanisme sinergisme yang diteliti berlangsung dalam sistem biologis sel. Akan tetapi kurkumin tidak larut dalam air(bersifat lipofilik) sehingga mekanisme sinergismenya dengan katekin yang larut dalam air (bersifat hidrofilik) baru sebatas prediksi.

Mekanismenya diasumsikan mirip dengan sinergisme antara vitamin E (larut lemak) dan vitamin C (larut air). Di dalam sistem biologis (sel), curcumin diperkirakan terletak diantara *central lipid layer* pada membran sel, bersebelahan dengan katekin yang terlarut dalam cairan sel (plasma). Mekanisme yang diperkirakan terjadi adalah radikal kurkumin akan memposisikan dirinya pada batas membran sel bersebelahan dengan cairan sel. Sehingga apabila telah terbentuk radikal, maka radikal tersebut dapat melompat dan pindah sehingga dapat ditangkap oleh katekin dan dinetralkan. Dengan adanya sinergisme yang terjadi antara kurkumin tereduksi dan katekin, maka aktivitas biologis kurkumin yang cepat hilang karena sifatnya yang sensitive dan sukar diserap oleh tubuh dapat diatasi dengan menggabungkannya dengan katekin yang lebih larut air dan bersifat

bioavailable (banyak tersedia di alam). Berikut merupakan prediksi mekanisme sinergisme yang diajukan oleh Jovanovic dkk :



Gambar 4.13. Prediksi Mekanisme Sinergisme Antara Kurkumin dan

Katekin

Dari mekanisme reaksi di atas terlihat ketika terjadi oksidasi lipid maka akan terbentuk radikal bebas, kemudian radikal bebas ini akan ditangkap oleh kurkumin sehingga terbentuk radikal kurkumin. Radikal kurkumin ini kemudian akan distabilkan dengan cara katekin akan mendonorkan salah satu atom hidrogennya kepada kurkumin sehingga akan terbentuk radikal sekunder pada katekin. Radikal sekunder ini berumur pendek dan tidak berbahaya bagi kesehatan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil dari kurkumin yang direduksi dengan LiAlH_4 adalah sebanyak 0,27 g dengan % rendemen sebesar 73,55 % (mol/mol).
2. Hasil isolasi katekin dari daun teh adalah sebanyak 0,47 g dengan % rendemen sebesar 4,73 % (mol/mol).
3. Pada uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC_{50} dari campuran kurkumin reduksi dan katekin 1:1 sebesar 8,55 $\mu\text{g/mL}$ atau 10 kali lipat dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari katekin sebesar 85,44 $\mu\text{g/mL}$ dan 12 kali lipat dibandingkan dengan nilai IC_{50} kurkumin reduksi sebesar 102,63 $\mu\text{g/mL}$.
4. Penambahan mol baik bagi kurkumin tereduksi maupun katekin dalam campuran tidak berpengaruh besar bagi aktivitas antioksidan campuran, dimana untuk campuran kurkumin dan katekin 1:10 diperoleh IC_{50} sebesar 35,26 $\mu\text{g/mL}$ dan untuk campuran kurkumin dan katekin 10:1 diperoleh IC_{50} sebesar 49,37 $\mu\text{g/mL}$.

5.2. Saran

1. Peningkatan hasil ekstraksi katekin dapat dilakukan dengan optimasi faktor-faktor teknis, misalnya pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi.
2. Untuk meningkatkan hasil pemurnian kristal kurkumin tereduksi dapat dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom.
3. Peningkatan kepolaran kurkumin selain dengan reduksi juga dapat dilakukan penggabungan reduksi dan hidrolisis.



DAFTAR PUSTAKA

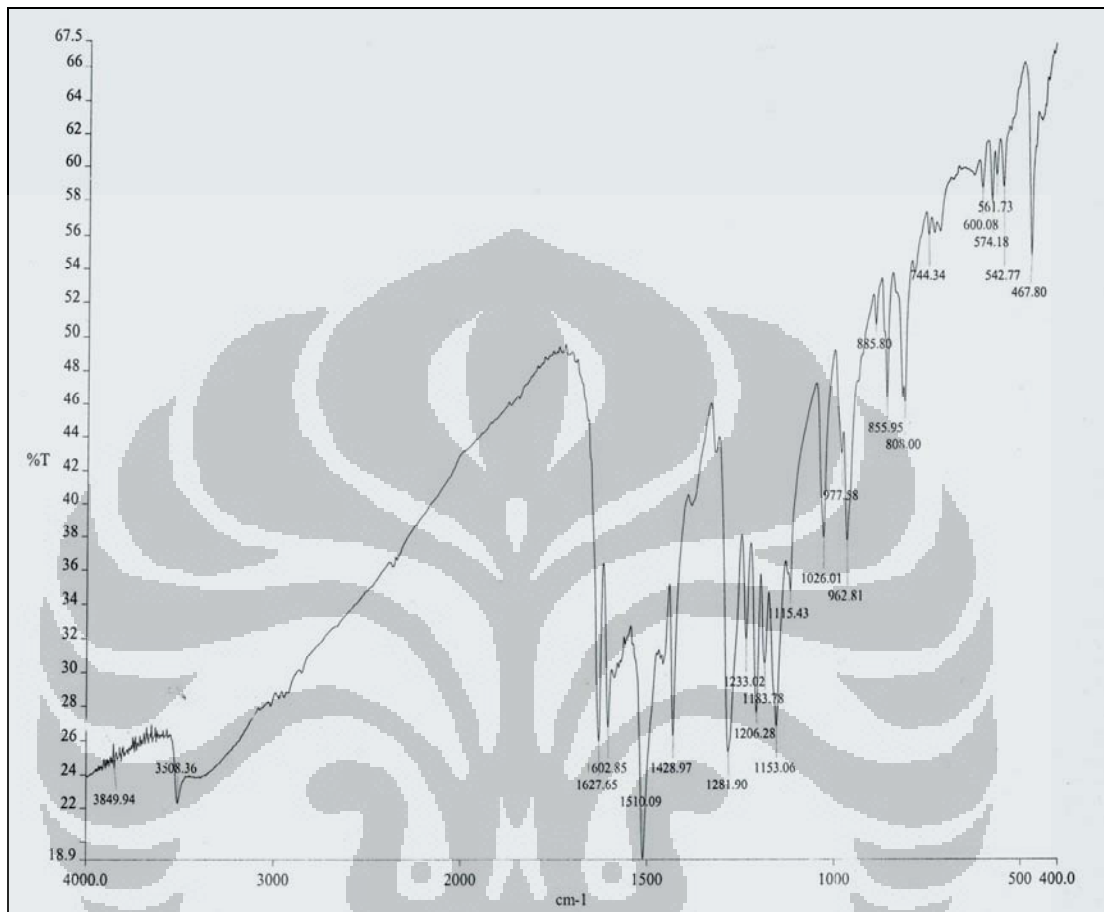
1. Suhanah. 2004. *Studi Isolasi dan Aktivitas Radical Scavenger (Penangkap Radikal) Rimpang Kunyit (Curcuma Longa)*. Karya Utama Sarjana Kimia FMIPA-UI. Depok.
2. Andarwulan, N., Fardiaz, D. 1994. *Isolasi dan karakterisasi Antioksidan Alami dari Jinten (Curcumin Cyrumin Linn)*. USU Digital Library.
3. Buck , D.F. 1991. *Food Additive User's Handbook*. Blackie Academic & Profesional. Glasgow-UK.
4. Coppen, P.P 1983. *The use of antioxidant*. Applied Science Publishers. London
5. Gordon, M.H 1990. *The mechanism of antioxidants action in vitro*. Elsevier Applied Science. London.
6. Nakatani, N. 1992. *Natural Antioxidants From Spices*. American Chemical Society. Washington DC.
7. Pratt, D.E. 1992. *Natural Antioxidants From Plant Material*. American Chemical Society. Washington DC.
8. Widjaya, C.H. 2003. *Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh, Edisi IV*. Grasindo. Jakarta.
9. Badjri, S. 1969. *Anti Oxidantia*. FIPIA UI. Depok.

10. Fessenden, R.J., Fessenden, J.S. 1993. *Kimia Organik Jilid 2*. Jakarta: Erlangga
11. Febiyanti, F. 2005. *Hidrogenasi Kurkumin dan Uji Antioksidan*. Karya Utama Sarjana Kimia ⁶⁹ UI-Depok.
12. Medikasari. 2002. *Bahan Tambahan Makanan : Fungsi dan Penggunaannya dalam Makanan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
13. Siagian, A., Susilo, T.B. 2004. *Bahan Tambahan Makanan*. USU Digital Library.
14. Jovanovic, S.V. 2001. *How Curcumin Works Preferentially with Water soluble Antioxidants*. J.Am.Chem.Soc, 123, 3064-3068.
15. Nur A., I. 2001. *Isolasi dan Studi Aktivitas Antioksidan dari Rimpang Lembayung Wangi (Zingiber aromaticum Va)*. Karya Utama Sarjana Kimia FMIPA-UI. Depok.
16. Wade Jr, L.G. *Organic Chemistry, 5th edition, International Edition*. Pearson Education. New Jersey.
17. Songklanakarin. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. J.Scie.Tech, 26.211-219.
18. Masuda, T., Yukiko, T., Hiromi, B., Tomomi, M., Yoshio, T., Hidemasa, Y. 2002. *Structural Identification of New Curcumin Dimers and Their Contribution to the Antioxidant of Curcumin*. J. Agric. Food. Chem, 50, 2524-2530.

19. Aini, N. 2007. *Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Campuran Derivat Kurkumin dan Asam Askorbat*. Karya Utama Sarjana Kimia FMIPA-UI. Depok.
20. Triastuti, M. 2006. *Reduksi Kurkumin dengan LiAlH₄ dan Uji Aktivitas Antioksidan*. Karya Utama Sarjana Kimia FMIPA-UI. Depok.
21. Tejada, R., Dura'n, J.D.G., Ontiveros, O., M. Espinosa, J., R. Perea, C., Chibowski, E.. 2002. *Investigation of alumina/(+)-catechin System Properties. Part I: a study of system by FT-IR UV-Vis spectroscopy*. J. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces ,24 (2002) 297–308
22. <http://id.wikipedia.org/wiki/Curcumin>. 3 Januari 2008. Pk 16.40 WIB.
23. <http://en.wikipedia.org/wiki/LAH>. 3 Januari 2008. Pk 15.20 WIB.
24. <http://www.inchem.org/curcumin>. 3 Januari 2008. Pk 15.45 WIB.
25. <http://www.chemguide.co.uk/organicprops/carbonyls/reduction.html>. 4 Januari 2008. Pk 10.05 WIB.
26. <http://cheminfo.chemi.muni.cz/ianua/epr/obr/DPPH.dat.gif>. 4 Januari 2008. Pk 11.30 WIB.

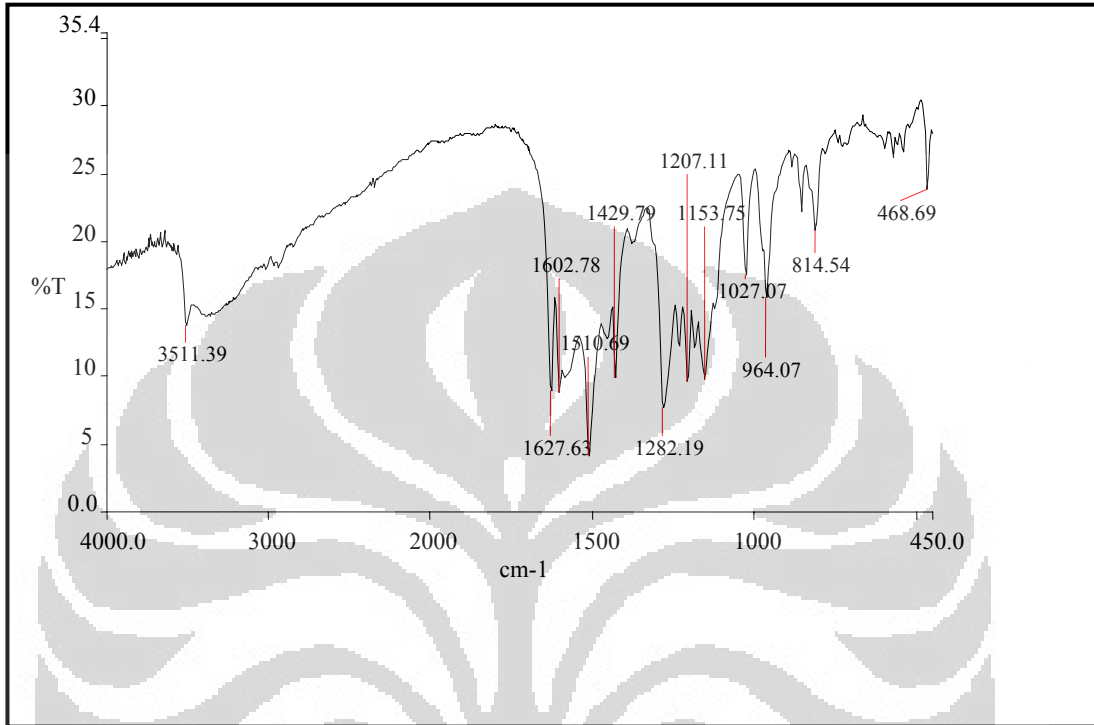


LAMPIRAN 1



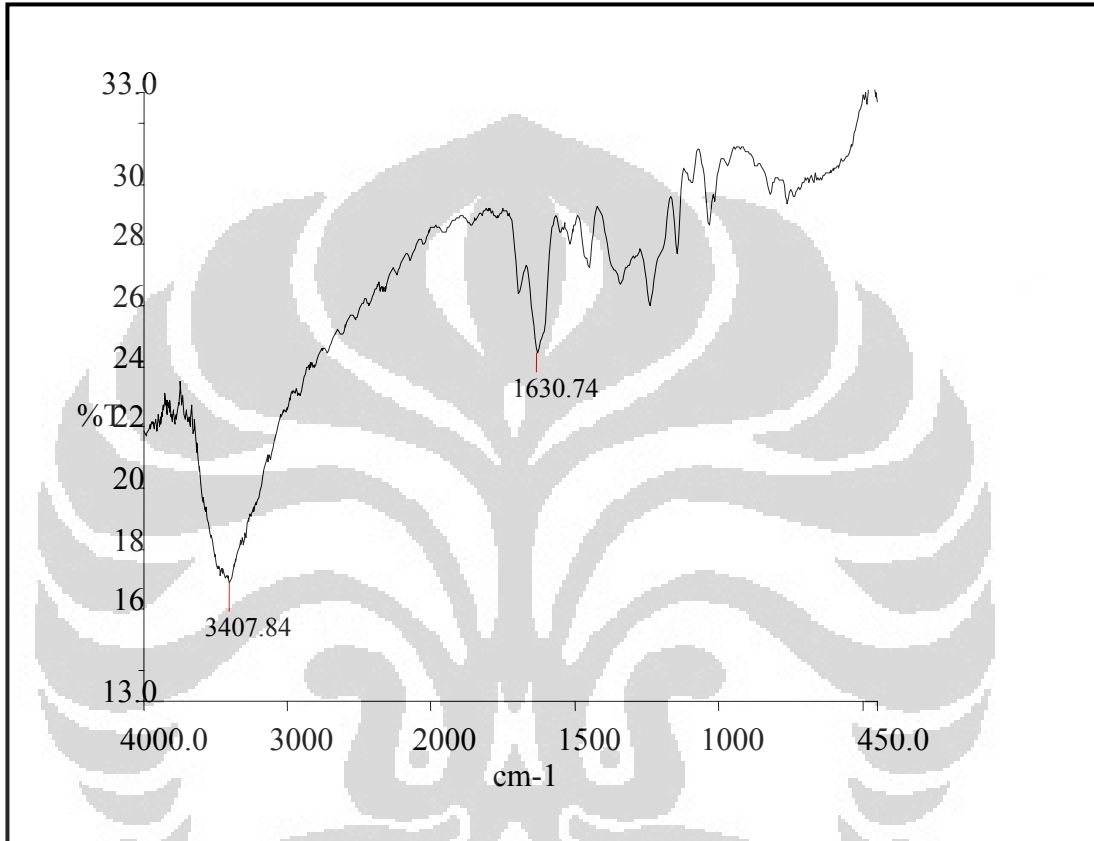
Spektrum FT-IR Standar Kurkumin

LAMPIRAN 2



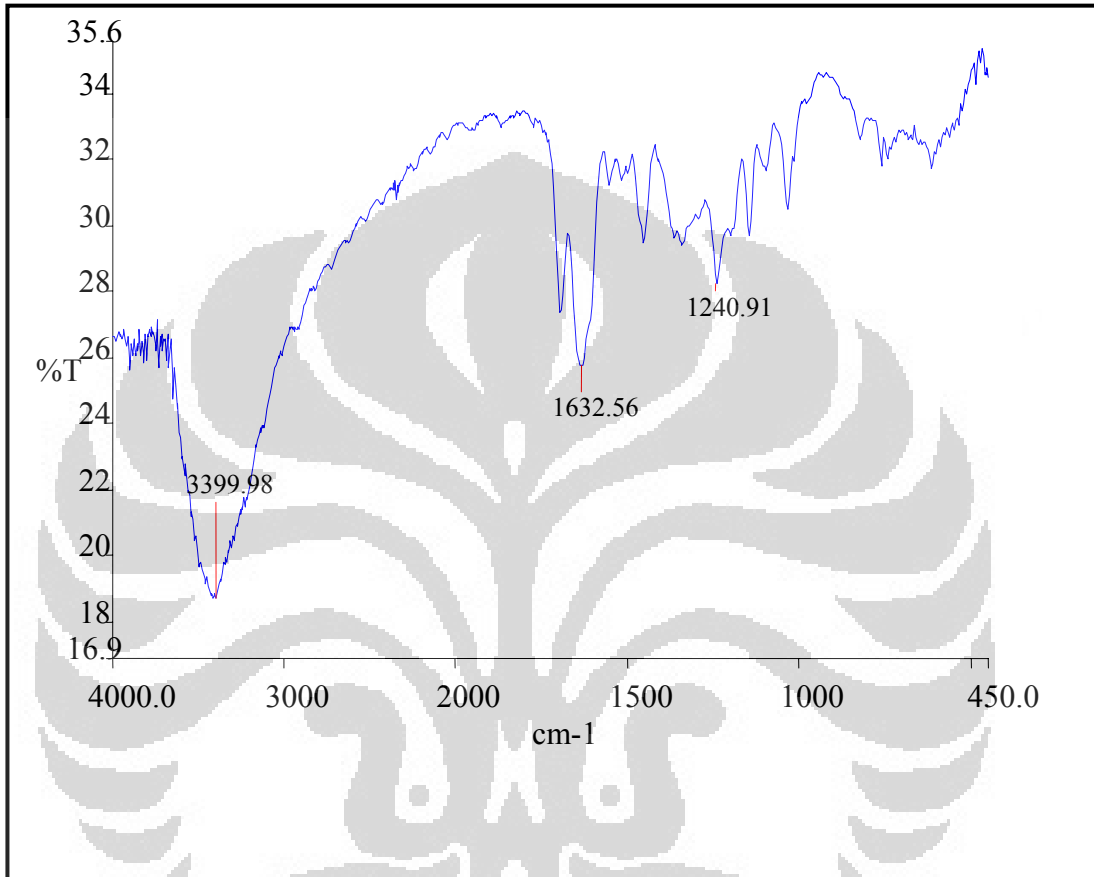
Spektrum FT-IR Kurkumin Hasil Reduksi

LAMPIRAN 3



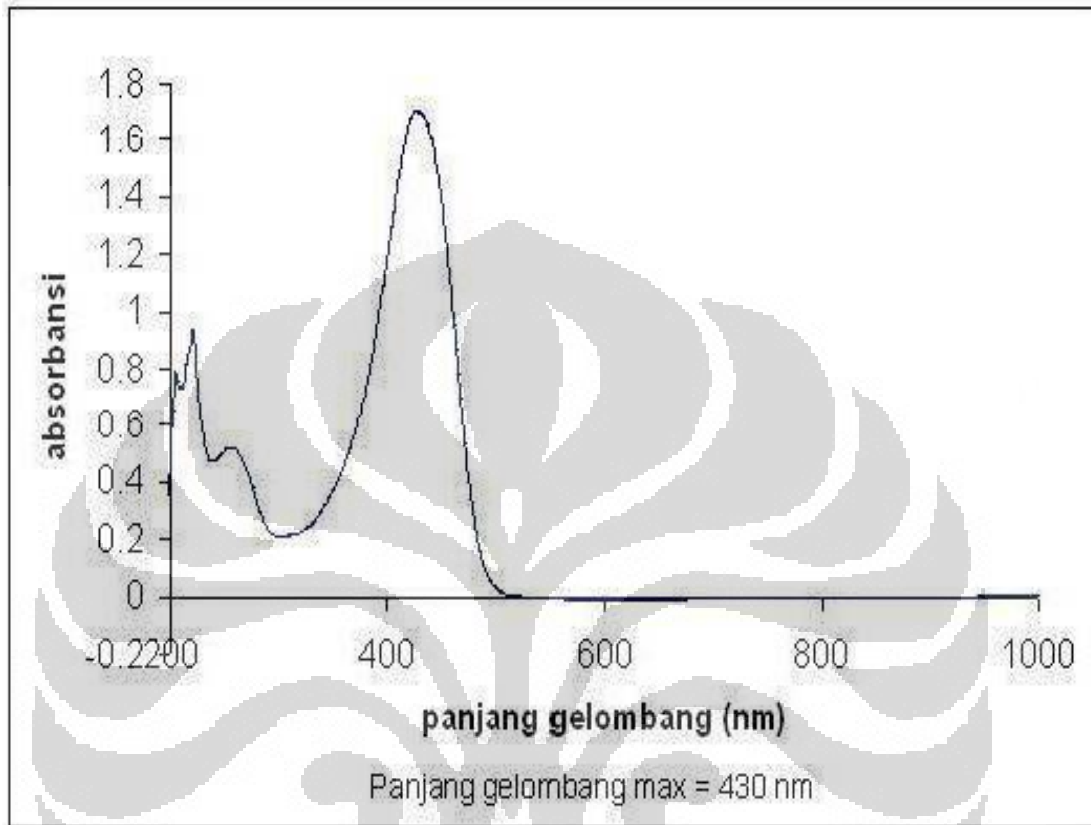
Spektrum FT-IR Standar Katekin

LAMPIRAN 4



Spektrum FT-IR Katekin Hasil Isolasi

LAMPIRAN 5



Spektrum UV-Vis Kurkumin Reduksi

LAMPIRAN 6

Uji Aktivitas Antioksidan (dalam $\mu\text{g/mL}$)

Waktu	Kontrol	kurkumin			katekin		
		10	50	100	10	50	100
0	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368
5	1.0352	0.7486	0.7077	0.5458	0.8421	0.7517	0.4513
10	1.0351	0.7384	0.7015	0.5291	0.8396	0.7442	0.4474
15	1.0349	0.7297	0.6982	0.5153	0.8303	0.7388	0.4421
20	1.0348	0.7258	0.6933	0.5106	0.8249	0.7331	0.4393
25	1.0332	0.7132	0.6865	0.5091	0.8216	0.7289	0.4365
30	1.0329	0.7059	0.6809	0.5053	0.8187	0.7248	0.4314



LAMPIRAN 7

Uji Aktivitas Antioksidan (dalam $\mu\text{g/mL}$)

Waktu	Kontrol	Katekin:kurkumin 1:1			Katekin:kurkumin 1:10			Katekin:kurkumin 10:1		
		10	50	100	10	50	100	10	50	100
0	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368	1.0368
5	1.0352	0.5330	0.4438	0.2861	0.6034	0.5962	0.4235	0.6039	0.5354	0.3186
10	1.0351	0.5269	0.4393	0.2829	0.5913	0.5899	0.4193	0.5931	0.5301	0.3099
15	1.0349	0.5241	0.4353	0.2797	0.5834	0.5785	0.4166	0.5872	0.5291	0.3068
20	1.0348	0.5192	0.4315	0.2751	0.5793	0.5708	0.4134	0.5833	0.5255	0.3039
25	1.0332	0.5102	0.4278	0.2682	0.5697	0.5668	0.4097	0.5791	0.5180	0.2988
30	1.0329	0.5070	0.4239	0.2638	0.5662	0.5593	0.4068	0.5749	0.5133	0.2955



