

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT
DAN AIR EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus
manihot* L) DENGAN METODE DPPH**



Oleh :

**Devi Agustin P
20144160A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT
DAN AIR EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus
manihot* L) DENGAN METODE DPPH**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*

*Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Devi Agustin P
20144160 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L) DENGAN METODE DPPH

Oleh :

Devi Agustin Purnamasari
20144160A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 14 Agustus 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

Mamik Ponco Rahayu, S.Si., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dra. Kistrini, M.Si., Apt.

Penguji :

1. Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt
2. Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt.
3. Reslely Harjanti, S.Farm., M.Sc., Apt.
4. Mamik Ponco Rahayu, S.Si., M.Si., Apt.

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah

**Kupersembahkan karyaku kepada :
Kepada ALLAH SWT. Sujud syukur atas kasih sayangmu telah
memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu. Atas karunia serta
kemudahan yang engkau berikan kepada hamba.**

Sholawat serta salam selalu terimpahkan kepada nabi Muhammad SAW.

Ibu serta Bapak

**Kupersembahkan skripsi ini untuk ibu serta bapak yang telah memberikan
dukungan, doa, nasehat serta kasih sayang.**

Kakak

**Kupersembahkan skripsi ini untuk kakak ku Wahyu Febri Dwiatmojo yang
selalu memberikan semangat, dan juga doa kepada adiknya.**

**Rekan-rekan khususnya king salman family (Anita, Ayu, Nanni, Nawang,
Yanuar), Ima Dwiatun, Ana Koton, Cincin Madu, dan semua angkatan 2014.
Terimakasih atas kerjasama dan bantuannya selama ini untuk menyelesaikan
penelitian skripsi ini.**

**Terkasih Muhammad Taufiq B. Terimakasih telah memberikan dorongan,
nasehat, untuk menyelesaikan skripsi ini.**

Lain-lain

**Kupersembahkan skripsi ini untuk keluarga besarku yang telah membantu
memberikan doa nasehat serta dorongan dalam menyelesaikan skripsi. Serta
semua pihak yang telah membantu. Bapak ibu dosen yang telah
membimbing dalam menyelesaikan skripsi serta pihak yang membantu
pengadaan daun geddi merah dari Sumatera Utara**

“sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah
selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh sungguh (urusan) yang
lain.”(QS. Al-Insyirah 6-7)

“Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah
diusahakannya, dan bahwasanya usaha itu kelak akan diperlihatkan (kepadanya).
Kemudian akan diberi balasan kepadanya dengan balasan yang paling sempurna”
(QS. An-Najm 38-41)

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap mendapatkan sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Agustus 2018



Devi Agustin Purnamasari

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L) DENGAN METODE DPPH**

. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kistrini, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis

berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Daun	6
1. Sistematika tanaman.....	6
2. Deskripsi tanaman	6
3. Nama lain.....	7
4. Kandungan kimia	7
4.1 Flavonoid	7
4.2 Tanin.....	8
4.3 Alkaloid	8
4.4 Saponin	8
5. Kegunaan	10
B. Simplisia	10
1. Pengertian simplisia	10

2.	Pengumpulan simplisia.....	11
3.	Pencucian dan pengeringan simplisia.....	11
4.	Pemilihan simplisia	12
C.	Metode Penyarian	12
1.	Pengertian ekstrak	12
2.	Metode ekstraksi	12
2.1	Metode maserasi	12
3.	Fraksinasi.....	12
4.	Pelarut.....	13
D.	Radikal Bebas	14
E.	Antioksidan.....	15
1.	Penggolongan antioksidan	15
1.1.	Antioksidan primer.....	15
1.2.	Antioksidan sekunder.....	16
1.3.	Antioksidan tersier	16
2.	Mekanisme kerja antioksidan.....	16
3.	Metode Pengujian antioksidan	17
3.1.	Pengukuran penangkap radikal	17
3.2.	Pengujian aktivitas antioksidan dengan sistem linoleat– tiosianat	17
3.3.	Pengujian dengan asam tiobarbiturat (TBA)	17
3.4.	Pengujian dengan sistem karoten – linoleat.....	17
F.	Rutin.....	17
G.	Metode DPPH.....	18
H.	Spektrofotometer.....	19
1.	Tipe tipe spektrofotometer UV-Vis.....	20
1.1.	Single-beam.	20
1.2.	Double-beam.....	20
2.	Prinsip kerja spektrofotometer UV-vis.....	21
3.	Instrumen spektrofotometer UV-vis.....	21
3.1	Sumber cahaya.....	21
3.2	Monokromator.	21
3.3	Wadah sampel (kuvet).....	22
3.4	Detektor.....	22
3.5	Visual display/Recorder.	22
I.	Landasan Teori.....	22
J.	Hipotesis	24
BAB III	METODE PENELITIAN	25
A.	Populasi dan Sampel	25
B.	Variabel Penelitian.....	25
1.	Identifikasi variabel utama.....	25
2.	Klasifikasi variabel utama	25
3.	Definisi operasional variabel utama	25
C.	Bahan dan Alat.....	26
1.	Bahan.....	26

2.	Alat	26
D.	Jalannya Penelitian	27
1.	Determinasi daun gedi merah	27
2.	Penyiapan bahan.....	27
3.	Pembuatan serbuk	27
4.	Penetapan kadar air daun gedi merah.....	27
5.	Pembuatan ekstrak etanolik daun gedi merah	28
6.	Pembuatan fraksi.....	28
7.	Penapisan fitokimia senyawa metabolit sekunder	28
7.1	Tanin.....	28
7.2	Flavonoid.....	28
7.3	Alkaloid	29
8.	Identifikasi kandungan kimia dengan uji KLT	29
8.1	Identifikasi flavonoid	29
8.2	Identifikasi tanin	29
9.	Baku pembanding uji KLT	30
9.1.	Baku pembanding flavonoid.....	30
9.2.	Baku pembanding tanin.....	30
10.	Aktivitas daun gedi merah terhadap radikal bebas DPPH.....	30
10.1	Pembuatan larutan DPPH	30
10.2	Pembuatan larutan uji.....	30
10.3	Penyiapan larutan pembanding rutin.....	30
10.4	Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH.....	30
10.5	Penentuan <i>Operating Time</i> DPPH	31
10.6	Uji aktivitas antioksidan	31
E.	Analisa Hasil.....	31
F.	Skema Penelitian.....	32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		33
1.	Determinasi tanaman gedi merah (<i>Abelmoschus manihot</i> L)	33
2.	Pembuatan serbuk daun gedi merah.....	33
3.	Pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah.....	34
4.	Penetapan kadar air serbuk daun gedi merah.....	34
5.	Perhitungan rendemen fraksi n-heksan, etil asetat, dan air daun gedi merah.	35
6.	Identifikasi kandungan kimia daun gedi merah	36
7.	Identifikasi KLT	37
8.	Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH.....	38
8.1	Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum	38
8.2	Hasil penetapan <i>Operating Time</i>	39
8.3	Hasil pengujian aktivitas antioksidan terhadap DPPH.....	39

BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	44
	A. Kesimpulan.....	44
	B. Saran.....	44
	DAFTAR PUSTAKA	45
	LAMPIRAN	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman gedi merah (<i>Abelmoschus manihot</i> L)	6
2. Struktur kimia rutin (White dan Y. Xing 1951; Madhavi <i>et al.</i> 1985; Maslarova 2001).....	18
3. Reaksi DPPH dan Antioksidan (Yamaguchi <i>et al</i> 2008).	19
4. Diagram alat spektrofotometer UV-vis (<i>Single beam</i>).....	20
5. Skema spektrofotometer UV-vis (Double beam)	21
6. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun gedi merah (<i>abelmoschus manihot</i> L).	32
7. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum	39
8. Hasil aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH	42
9. Kerangka C ₆ -C ₃ -C ₆ Flavonoid	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kekuatan antioksidan dengan senyawa pereaksi DPPH	23
2. Rendemen simplisia daun gedi merah.	33
3. Rendemen ekstrak daun gedi merah	34
4. Penetapan kadar air serbuk daun gedi merah	35
5. Hasil fraksinasi ekstrak daun gedi merah.....	35
6. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun gedi merah	36
7. Hasil identifikasi kandungan kimia masing masing fraksi daun gedi merah	36
8. Hasil identifikasi flavonoid secara kromatografi lapis tipis	37
9. Hasil identifikasi tanin secara kromatografi lapis tipis	38
10. Hasil rata-rata nilai absorbansi daun gedi merah.....	40
11. Kekuatan antioksidan dengan senyawa pereaksi DPPH	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil Determinasi tanaman.....	53
2. Daun gedi merah	54
3. Alat.....	56
4. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah.....	57
5. Hasil penetapan kadar air daun gedi merah.....	58
6. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun gedi merah.....	59
7. Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan fraksi air daun gedi merah	60
8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan serbuk daun gedi merah ...	61
9. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi daun gedi merah	63
10. Hasil identifikasi KLT.....	65
11. Radikal bebas DPPH.....	67
12. Ekstrak etanol daun gedi merah.....	68
13. Fraksi <i>n</i> heksan, etil asetat, dan air daun gedi merah.....	69
14. Perhitungan rutin.....	70
15. Perhitungan IC ₅₀ ekstrak etanol daun gedi merah.	71
16. Perhitungan IC ₅₀ fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan fraksi air	72
17. Perhitungan IC ₅₀ rutin	75
18. Panjang gelombang maksimum.....	76
19. Data Operating time	77

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of variances</i>
DPPH	: <i>Diphenylpicrylhydrazyl</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration 50</i>
UV-vis	: <i>Ultra Violet Visible</i>

INTISARI

PURNAMASARI, DA., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI n-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L) DENGAN METODE DPPH. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh. Karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L) mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, saponin antrakuinon dan antosianin yang diduga memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ekstrak etanol fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun gedi merah mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, serta untuk mengetahui fraksi teraktif yang berperan sebagai antioksidan.

Serbuk daun gedi merah dimaserasi menggunakan etanol 70% kemudian ekstrak etanol difraksinasi menggunakan *n*-heksana, etil asetat dan air. Senyawa dari ekstrak dan fraksi kemudian diidentifikasi KLT. Fraksi dan ekstrak kemudian diuji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH menggunakan alat spektrofotometer dan menggunakan kontrol positif rutin. Setelah dilakukan uji antioksidan kemudian menentukan harga IC₅₀. Setelah didapat hasil kemudian data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS one way anova.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah memiliki aktivitas antioksidan sebesar 116,66 ppm, fraksi *n* heksan sebesar 211,78 ppm, fraksi etil asetat sebesar 84,19 ppm, fraksi air sebesar 95,73 ppm, dan rutin sebesar 9,52 pm. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat.

Kata kunci : daun gedi merah, ekstrak etanol, DPPH, fraksi, antioksidan.

ABSTRACT

PURNAMASARI, DA., 2018, ACTIVITY TEST OF ANTIOXIDANT FRACTION n-HEKSAN, ETHYL ACETATE, AND WATER FRACTION OF ETHANOL EXTRACT GEDI MERAH LEAVES (*Abelmoschus manihot* L) WITH DPPH METHOD. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Antioxidant is important compounds to maintaining body health. Because having functions as a free radical catcher. Gedi merah contain flavonoid, tannin, alkaloids, saponins, anthraquinone and anthocyanin suspected of having antioxidant activity. The purpose of this study was to determine the ethanol extract of n- hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fractionof gedi merah leaves had antioxidant activity using DPPH method, and to find out the most active fractions that act as antioxidant.

Gedi merah leaf powder macerated using 70% ethanol then ethanol extract was fractionated using n-hexane, ethyl acetate and water. Compounds from extracts and fractions were then identified by KLT. Fractions and extract were tested for antioxidant activity with free radicals DPPH using a spectrophotometer and using routine positive controls. After testing the antioxidant activity then determine the IC₅₀ value. After obtaining the results, the data obtained were analyzed by SPSS one way anova.

The results showed that ethanolic extract of gedi merah leaves had antioxidant activity of 116,66 ppm, n hexane fraction of 211,78 ppm, ethyl acetate fraction of 84,19 ppm, and water fraction of 95,73 ppm, and rutin of 9,52 ppm. Ethyl acetate fraction has the most potent antioxidant activity.

Keyword : gedi merah leaves, ethanol extract DPPH, fraction, antioxidant.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Konsumsi buah dan sayuran dapat mencegah dan menurunkan resiko penyakit degeneratif seperti kanker dan jantung. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa polifenol pada buah dan sayuran yang memiliki aktivitas biologi. Golongan senyawa polifenol paling banyak dijumpai pada sayuran adalah flavonoid. Aktivitas biologi flavonoid sebagai antioksidan dilaporkan dapat menghambat peroksidasi lipid, menangkalkan radikal bebas, spesies oksigen aktif (ROS) serta mengkelat logam (Ammar *et al* 2009; Liu dan Zhu, 2007).

Peningkatan jumlah penderita penyakit degeneratif pada masyarakat dunia, seperti penyakit jantung koroner, hipertensi, stroke dan kanker. Peningkatan intensitas penyakit ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya menurunnya kualitas lingkungan akibat pencemaran; pola makan yang cenderung memilih makanan siap saji yang berlemak dan berkolesterol tinggi; serta gaya hidup yang tidak sehat seperti merokok. Faktor-faktor ini memainkan peranan penting dalam pembentukan radikal bebas di dalam tubuh.

Radikal bebas merupakan atom molekul yang memiliki elektron bebas yang tak berpasangan (unpaired elektron). Radikal bebas akan terus mencari elektron dari molekul molekul disekitarnya dan apabila tidak dikendalikan reaksi berantai ini dapat berlangsung secara terus menerus (Halliwell dan Gutteridge 2000). Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak sel DNA sehingga mengacaukan sistem sel genetika, dan berlanjut pada pembentukan sel kanker.

Penggunaan antioksidan mampu memperlambat atau menangkalkan proses oksidasi, baik diakibatkan oleh radikal bebas maupun agen pengoksidasi lainnya. Antioksidan sendiri dibagi menjadi tiga, diantaranya antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier. Tubuh menghasilkan antioksidan

namun tidak cukup kuat dalam berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap hari oleh tubuh.

Salah satu senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah flavonoid. Pada sayuran flavonoid merupakan metabolit sekunder yang dimanfaatkan untuk kesehatan dan bahan pengkhat yang menjadi penyumbang utama terhadap kapasitas fungsinya sebagai antioksidan. Flavonoid juga dapat memodulasi jalur sinyal sel dan efeknya dapat ditandai pada fungsi sel dengan mengubah protein dan fosforilasi lemak dan modulasi ekspresi gen (Číž *et al* 2010). Berdasarkan strukturnya, flavonoid adalah turunan senyawa induk flavon yang mempunyai sejumlah sifat yang sama. Aglikon flavonoid terdapat pada tumbuhan dengan bentuk struktur yang berbeda-beda. Setiap struktur mengandung atom karbon dalam inti dasar yang tersusun dalam bentuk konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Semua varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesis yang sama dari alur sikimat dan alur asetat-malonat. Flavonoid dalam tumbuhan umumnya terikat sebagai glikosida, baik O-glikosida maupun C-glikosida (Markham 1988; Harborne 1987).

Tanaman gedi merah merupakan tanaman tropis famili Malvacea, merupakan tumbuhan tahunan yang berbatang tegak dengan tinggi sekitar 1,2 – 1,8 m. Kandungan mucilago dari tanaman tersebut terdiri atas polisakarida dan protein. Daun gedi merah diekstraksi dengan alkohol 96%, memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas IC₅₀ sebesar 133,05 ppm (Firdaus, 2018). Daun gedi juga telah diuji dapat mencegah *ovariectomy-induced* kondisi densitas mineral tulang yang lebih rendah dari batas normal *pada* bagian sendi tungkai akibat *operasi* pengangkatan rahim/ovarium (Lin-lin *et al* 2007; Jain *et al* 2009). Tanaman gedi juga dapat meningkatkan fungsi penyaringan glomerular, mengurangi proteinuria, hiperplasia mesangium yang dapat mengurangi kerusakan jaringan ginjal (Shao-Yu *et al* 2006). Sebagian kecil penduduk Indonesia memanfaatkan bagian daun gedi sebagai bahan pangan.

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan *in vivo* dan *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* dapat menggunakan pereaksi senyawa kimia

radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) secara spektrofotometri. Metode DPPH dipilih karena mudah, sederhana, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH adalah IC_{50} , yaitu konsentrasi ekstrak atau fraksi uji yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50% (Zou *et al* 2004).

DPPH dapat memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkal radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan kehilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Kuncahyo & Sunarto 2007).

Pengujian antioksidan dengan senyawa pereaksi DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), terlebih dahulu dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi sendiri ialah cara ekstraksi yang paling sederhana. Simplisia dihaluskan sesuai persyaratan farmakope (umumnya di potong potong atau diserbuk kasar) direndam bersama bahan ekstraksi. Rendaman disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari untuk mencegah adanya reaksi yang dikatalis oleh cahaya atau perubahan warna lalu dikocok kembali. Persyaratan maserasi adalah rendaman simplisia harus dikocok berulang ulang (kira kira 3 hari sekali), cara ini dapat menjamin keseimbangan konsentrasi bahan. Setelah dilakukan proses ekstraksi akan didapat ekstrak kental yang kemudian digunakan untuk proses fraksinasi.

Fraksinasi merupakan suatu cara untuk memisahkan golongan utama dari golongan utama lain berdasarkan kepolaran suatu senyawa. Pada penelitian kali ini fraksinasi yang digunakan dengan metode ekstraksi cair cair bersifat sederhana, bersih, cepat dan mudah. Ekstraksi cair cair merupakan suatu teknik bila suatu larutan dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada hakekatnya tidak tercampurkan dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (solute) kedalam pelarut

yang kedua. Pemisahan dilakukan dengan cara mengocok ngocok dalam sebuah corong pisah selama beberapa menit (Bassed J *et al* 1994). Pada penelitian kali ini fraksinasi dilakukan dengan menggunakan fraksi *n*-heksana, etil asetat serta fraksi air.

Penelitian tentang fraksi fraksi ekstrak etanol daun gedi merah sebagai antioksidan terhadap radikal bebas DPPH belum pernah diteliti sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian. Pada penelitian kali ini diharapkan dapat menentukan alternatif bahan antioksidan yang mampu menghambat radikal bebas sehingga dapat dikembangkan penggunaannya terhadap penyakit yang berkaitan dengan radikal bebas.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol, fraksi *n*- heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L) mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH?
2. Fraksi atau ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L) manakah yang paling aktif dalam uji aktivitas antioksidan?
3. Fraksi atau ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L) manakah yang memiliki nilai IC₅₀ terendah sebagai antioksidan?

C. Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak etanol. Fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L) mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH,
2. Untuk mengetahui ketiga fraksi atau ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L).
3. Untuk mengetahui nilai IC₅₀ dari ekstrak, dan masing masing fraksi daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L).

D. Kegunaan Penelitian

Diharapkan dapat memberikan informasi dalam bidang pengembangan ilmu pengetahuan obat tradisional, khususnya daun gedi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas serta, bagi peneliti dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat ekstrak dan fraksi daun gedi merah sebagai antioksidan dan sebagai acuan yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Daun

1. Sistematika tanaman

Taxonomi dan nomenklatur tanaman gedi (*Abelmoschus manihot* L) adalah sebagai berikut :

Klasifikasi	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae (suku kapas-kapasan)
Genus	: <i>Abelmoschus</i>
Species	: <i>Abelmoschus manihot</i> L.

Sinonim *Hibiscus manihot* L. (Plantamour, 2010; ITIS Report, 2010).



Gambar 1. Tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L)

2. Deskripsi tanaman

Tanaman gedi sangat mudah ditemukan di iklim tropis, salah satunya di Indonesia. Tanaman ini biasanya tumbuh dengan tinggi $\pm 3,5$ m, memiliki batang yang bulat, tegak, percabangan monopodial, dan berwarna hijau. Bentuk daunnya merupakan daun tunggal, persegi lima, berlekuk, bercabang atau terbagi lima.,

pangkal bentuk jantung, ujung lancip, panjang 6-33 cm, lebar 5-20 cm, tulang daun menjari, panjang tangkai 5-10 cm, dan daunnya berwarna hijau. Tanaman gedi merah juga mempunyai bunga yang berbentuk lonceng, tunggal, terletak di ketiak daun, kelopak 2-3 cm, segitiga, berbulu, ujung bertajuk lima, hijau, benang sari bentuk tabung, kepala sari lepas, kuning, mahkota lima, pangkalnya merah, panjang \pm 3,5 – 10 cm. Akar tanaman gedi adalah akar tunggang, bulat, bercabang, dan putih kekuningan (Depkes RI 2000).

3. Nama lain

Tanaman Gedi di Indonesia lebih banyak tumbuh dan dikenal di bagian Indonesia Timur, dengan nama yang berbeda beda. Dari Sulawesi Utara tepatnya di ibukota provinsi yaitu Manado, tanaman ini dikenal sebagai tanaman gedi (sayur gedi) sedangkan di daerah Papua biasa disebut daun kasturi. Tidak hanya di Indonesia saja yang mengenal tanaman gedi tetapi juga di negara lain dengan namanya masing masing. Seperti Philipina disebut Lagikuway, Thailand disebut po fai, dan di Inggris disebut Edible hibiscus.

4. Kandungan kimia

Berdasarkan penelitian yang sudah ada, daun gedi memiliki kandungan kimia antara lain flavonoid, tanin, alkaloid, polifenol, dan triterpenoid (Pranowo *et al* 2015).

4.1 Flavonoid. Flavonoid dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali ditemukan dalam bentuk flavonoid tunggal dalam bentuk flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan (Harborne 1987). Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon ($C_6-C_3-C_6$), artinya kerangka karbon terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu rantai linier (alifatik) yang terdiri dari tiga atom karbon. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. Kebanyakan senyawa terkonjugasi pada umumnya berwarna cerah sehingga menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum, sinar ultraviolet, dan spektrum sinar tampak. Efek flavonoid terhadap macam macam organisme sangat banyak antara lain, karena flavonoid sering merupakan senyawa produksi yang baik, mereka dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid merupakan senyawa polar yang larut dalam

pelarut polar seperti etanol, metanol, dan aseton. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida serta dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (Robinson 1995). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan, meredam radikal bebas dan menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga mengurangi terjadinya kerusakan sel (Hermani dan Raharjo 2005).

4.2 Tanin. Tanin merupakan senyawa kompleks, biasanya merupakan campuran polifenol yang sukar dipisahkan karena tidak dalam bentuk kristal. Tanin berfungsi sebagai pertahanan pada tumbuhan, memiliki aktivitas antioksidan yang menghambat pertumbuhan tumor dan mendenaturasi protein. Tanin merupakan sejenis kandungan tumbuhan yang bersifat fenol, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamakan kulit (Robinson 1995). Menurut batasannya tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kepolimer mantap yang tidak larut dalam air. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan. Tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisiskan. Tanin terkondensasi hampir semua terdapat dalam angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sebaliknya tanin yang terhidrolisiskan penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua (Harborne 1987).

4.3 Alkaloid. Alkaloid biasanya sering bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit, yang berupa cairan, misalnya nikotina pada suhu kamar, berbagai macam cara untuk mendeteksi alkaloid dalam jaringan tumbuhan telah dikemukakan. Bukti kualitatif untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh, dengan menggunakan reagen Dragendroff dan Mayer (Harborne 1996). Alkaloid bersifat bisa larut dalam pelarut organik yang relatif kurang polar seperti eter, kloroform, tetapi tidak larut dalam air. Alkaloid berbentuk kristal sedikit amorf berbentuk cair pada suhu kamar (Harborne 1987).

4.4 Saponin. Saponin merupakan glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin, tersebar luas di tanaman tinggi. Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih

yang stabil (Gunawan dan Mulyani 2007). Saponin larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpen dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh gugus OH biasanya C₃-OH dari aglikon (*monodesmoside saponin*) dan jarang dengan 2 gugus OH atau satu gugus OH dan satu gugus karboksil (Mustarichie *et al.* 2011). Saponin (triterpenoid, steroidal glikosides) mempunyai aktivitas menstimulasi pelepasan insulin dan memblokir pembentukan glukosa dalam aliran darah (Bhushan *et al.* 2010).

4.5 Antosianin. Antosianin merupakan salah satu pewarna alami karena merupakan zat berwarna merah, jingga, ungu, ataupun biru yang terdapat pada bunga dan buah buahan (Hidayat dan Saati, 2006). Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Antosianin dalam bentuk aglikon lebih aktif daripada bentuk glikosidanya (Santoso, 2006). Jumlah antosianin dalam yang berhasil diisolasi sebanyak 539 jenis tetapi hanya ada di bahan pangan seperti pelargonidin, cyanidin, peonidin, delphinidin, petunidin, dan malvidin (Mateus dan Freitas, 2009). Pigmen antosianin adalah pigmen yang bersifat larut dalam air, terdapat dalam aglikon sebagai antioksidan dan glikon sebagai gula yang diikat secara glikosidik. Bersifat stabil dalam pH asam, yaitu sekitar 1-4, dan menampilkan warna orange. Merah muda, merah ungu hingga biru (Lewis *et al.* 1997; Li, 2009) antosianin merupakan zat bersifat polar dan akan larut pada pelarut polar (Samsudin dan Khoirudin, 2011) antosianin lebih larut dalam air daripada pelarut non polar. Dan karakteristik ini membantu proses ekstraksi dan pemisahan (Xavier *et al.*, 2008). Antosianin merupakan senyawa satu kelas dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenil tumbuhan. Flavonoid -3-ol, flavon, flavonon dan flavonol adalah kelas tambahan flavonoid yang berbed dalam oksidasi dari antosianin.

4.6 Antrakuinon. Antrakuinon merupakan golongan dari senyawa glikosida turunan kuinon (Sirait, 2007) antrakuinon merupakan senyawa kristal yang bertitik leleh tinggi, dan larut dalam pelarut organik dan basa. Antrakuinon mudah terhidrolisis. Senyawa antrakuinon dan turunannya seringkali berwarna kuning sampai merah sindur (orange). Untuk identifikasi senyawa antrakuinon

digunakan reaksi Borntraeger. Semua warna antrakuinon memberikan warna rekasi yang khas dengan reaksi Borntraeger. Jika larutan ditambah dengan amonia maka larutan tersebut akan berubah merah untuk antrakuinon dan kuning untuk antron dan diantron. Antron adalah bentuk antrakuinon yang kurang teroksidasi dari antrakuinon, sedangkan diantron terbentuk dari dua unit antron.

5. Kegunaan

Tanaman gedi merah, telah digunakan secara tradisional untuk mengobati inflamasi, rasa sakit, infeksi urinari, dan bronkitis kronis. Rewatkar *et al* (2010), gedi merah secara luas digunakan untuk mengontrol fertilitas, depresi, dan kecemasan (anxiety) dalam pengobatan tradisional China dan memiliki potensi terapi yang menguntungkan untuk penyakit kardiovaskular dihubungkan dengan Diabetes mellitus.

Penelitian yang dilakukan diketahui bahwa daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.) dapat mencegah osteoporosis pada hewan coba mencit betina yang indung telurnya telah diangkat (*ovariectomised*). Berdasarkan penelitian ini daun gedi dapat menurunkan resorpsi dari tulang dengan menggunakan biomarker deoksipiridonolin. Senyawa berupa fitoestrogen golongan isoflavon yaitu lutein dapat memberikan efek sparing pada tulang (*Puel, et al 2005*)

Tanaman ini juga dipercaya memiliki banyak khasiat yang sudah teruji antara lain memiliki efek anti bakteri (*Jet mandey et al 2004*), efek analgesik efek antioksidan, serta dapat digunakan untuk kesehatan ginjal, osteoporosis, dan batuk (*Depkes RI 2000*).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Bentuk jamak dari kata simpleks yang berarti berasal dari kata simple, berarti satu atau sederhana. Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai bahan obat yang belum mengalami perubahan proses apapun, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan.

Simplisia terdiri atas tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia mineral/ pelikan. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat

berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan dari ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan tidak berupa bahan kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

2. Pengumpulan simplisia

Bagian simplisia yang diambil dari tanaman, misalnya daun, bunga, buah, akar atau rimpang. Hal ini karena zat berkhasiat tidak terdapat pada seluruh bagian tanaman. Kadangkala ada bagian tanaman yang justru beracun dan tidak dikehendaki. Bila yang dikumpulkan daun sebaiknya tidak bercampur dengan bagian lain dari tanaman seperti biji, bunga atau tangkai. Pengumpulan simplisia juga perlu memperhatikan kondisi khusus, misalnya pemanenan daun yang dilakukan sewaktu daun masih muda atau ketika masih tunas (Dalimartha 2008).

3. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia bertujuan untuk melepaskan kotoran (tanah, debu dan kotoran lainnya) yang melekat pada tanaman obat sehingga mikroba atau kotoran yang dapat merusak dan mengubah komposisi zat pada tanaman dapat dihilangkan. Proses pencucian dapat dilakukan dengan cara mengalirkan air bersih pada simplisia sehingga kotoran dapat terlarut dan terbuang. Kualitas air yang digunakan untuk membersihkan simplisia harus air bersih yang tidak mengandung mikroba atau logam, air yang digunakan disarankan menggunakan air tanah yang bersih (Dalimartha 2008).

Pengeringan simplisia bertujuan untuk mengurangi kadar air simplisia, sehingga simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktif berubah jika disimpan dalam waktu cukup lama. Pada proses pengeringan, simplisia seperti rimpang, batang, atau kulit kayu dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan secara alami, dilakukan dengan menjemur dibawah sinar matahari langsung. Simplisia dihamparkan merata setipis mungkin dengan alas tikar atau plastik sambil sering di balik agar kering merata (Dalimartha 2008).

4. Pemilihan simplisia

Proses pemilihan simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari benda asing yang berbahaya atau tidak berbahaya dalam jumlah kecil atau besar yang biasanya merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda – tanda pengotor lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes 1985).

C. Metode Penyarian

1. Pengertian ekstrak

Merupakan sediaan sari pekat tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing masing bahan obat, menggunakan pelarut yang cocok dengan menguapkan semua atau hampir semua pelarutnya dan sisa endapan atau serbuk diatur untuk ditetapkan standarnya. Sediaan ekstrak dibuat agar zat berkhasiat dari simplisia mempunyai kadar yang tinggi, sehingga memudahkan dalam pengaturan dosis (Ansel 1989).

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

2. Metode ekstraksi

2.1 Metode maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Simplisia dihaluskan sesuai persyaratan farmakope (umumnya di potong potong atau diserbuk kasar) direndam bersama bahan ekstraksi. Rendaman disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari untuk mencegah adanya reaksi yang dikatalis oleh cahaya atau perubahan warna lalu dikocok kembali. Persyaratan maserasi adalah rendaman simplisia harus dikocok berulang ulang (kira kira 3 hari sekali), cara ini dapat menjamin keseimbangan konsentrasi bahan.

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu cara untuk memisahkan golongan utama dari golongan utama lain berdasarkan kepolaran suatu senyawa. Senyawa yang bersifat

polar misalnya glikosida jantung, glikosida flavonoid, glikosida saponin dan tanin akan terlarut dalam pelarut polar, senyawa yang bersifat non polar yaitu n- butanol, metanol, etanol, asam asetat, isopropanolol, n- propanolol, dan asam formiat, air akan terlarut dalam pelarut non polar. Senyawa senyawa yang bersifat semipolar misalnya alkaloid, senyawa fenolik, asam fenolat, flavonoid juga akan masuk ke pelarut semi polar yang termasuk pelarut semi polar yaitu etil asetat, aseton, contoh pelarut non polar yaitu n- heksan, kloroform, benzena, karbon tetraklorida, dietil eter (Harborne 1987).

Ekstraksi cair cair bersifat sederhana, bersih, cepat dan mudah. Ekstraksi cair cair merupakan suatu teknik bila suatu larutan dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada hakekatnya tidak tercampurkan dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (solute) ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dilakukan dengan cara mengocok-ngocok dalam sebuah corong pisah selama beberapa menit (Bassed J *et al* 1994).

4. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan obat tertentu berdasarkan daya larut yang aktif, zat yang tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan (Ansel 1989). Pemilihan larutan penyari juga harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, beraksi netral, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Cairan penyari atau pelarut ada tiga macam yaitu pelarut polar, semi polar dan non polar contoh cairan penyari adalah etanol, n- heksan, etil asetat, dan air.

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida kurkumin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin, hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Depkes 1986).

n-Heksan merupakan pelarut non polar, berupa cairan yang jernih, mudah menguap, berbau seperti eter atau berbau seperti petroleum. Praktis tidak larut

dalam air, larut dalam etanol, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzena, dan sebagian besar minyak lemak serta minyak atsiri. Senyawa yang dapat larut oleh n-heksan adalah senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti lemak, steroid, terpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Depkes 1987).

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform (Depkes RI 1986). Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah alkaloid, flavonoid dan polifenol (Harborne 1987).

Air dipertimbangkan sebagai pelarut stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim, sehingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut air adalah garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, gula, gom, pati, protein, lilin, lemak pektin, saponin, dan tanin (Depkes 1986).

D. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom molekul yang memiliki elektron bebas yang tak berpasangan (unpaired elektron). Hal ini dapat dilihat misalnya pada air (H_2O). Ikatan atom oksigen dengan hidrogen pada air merupakan ikatan kovalen, yaitu ikatan kovalen yang timbul karena sepasang elektron dimiliki bersama oleh dua atom. Elektron yang tidak memiliki pasangan cenderung akan menarik elektron dari senyawa lain. Sehingga elektron tersebut akan dimiliki bersama oleh dua atom bersama oleh dua atom. Atau senyawa dan terbentuk suatu senyawa radikal bebas baru yang lebih reaktif. Reaktivitas yang meningkat tersebut menyebabkan senyawa radikal bebas menjadi lebih mudah untuk menyerang sel sehat dalam tubuh. Jika pertahanan tubuh lemah maka sel-sel tersebut menjadi sakit atau rusak (Uppu *et al.* 2010). Radikal bebas tersebut memiliki 2 sifat yaitu reaktivitasnya yang tinggi karena akan cenderung menarik elektron dari senyawa

yang lainnya lagi dan memiliki kemampuan untuk mengubah suatu molekul, atom, atau senyawa untuk menjadi suatu radikal baru. Target utama radikal bebas adalah protein, karbohidrat, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA. Dari molekul molekul target tersebut, yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh.

Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak sel DNA sehingga mengacaukan sistem sel genetika, dan berlanjut pada pembentukan sel kanker. Radikal bebas akan terus mencari elektron dari molekul molekul di sekitarnya dan apabila tidak dikendalikan reaksi berantai ini dapat berlangsung secara terus menerus (Halliwell dan Gutteridge 2000).

E. Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk senyawa nonradikal bebas yang tidak reaktif dan relatif stabil (Djamil dan Anelia 2009).

Tubuh menghasilkan antioksidan tetapi tidak cukup kuat untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap hari oleh tubuh sendiri. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar. Sebenarnya, antioksidan juga berkompetisi dengan sesamanya, sehingga membutuhkan campuran yang cukup tepat (Hermani dan Rahardjo 2005).

Antioksidan dapat digolongkan berdasarkan sumbernya dan berdasarkan mekanisme kerjanya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi antioksidan alami dan sintetik.

1. Penggolongan antioksidan

1.1. Antioksidan primer. Pembentukan senyawa radikal bebas yang baru dapat dicegah oleh jenis antioksidan primer. Antioksidan tersebut mengubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum radikal bebas itu bereaksi.

Antioksidan primer seperti enzim GPx (Glutation Peroksidase) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel sel dalam tubuh dan mencegah

peradangan karena radikal bebas. Enzim GPx ada didalam tubuh kita dimana kerjanya membutuhkan bantuan gizi atau mineral lainnya seperti mangan, seng dan tembaga.

1.2. Antioksidan sekunder. Fungsi antioksidan ini adalah menangkap senyawa serta menghentikan terjadinya reaksi yang berantai dalam pembentukan radikal bebas. Contoh antioksidan sekunder yaitu vitamin E (alfa tokoferol), vitamin C (Asam Askorbat), betakarotein dan kurkuminoid

1.3. Antioksidan tersier. Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dan jaringan. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksida reduktase yang dapat mencegah terjadinya penyakit kanker berperan dalam perbaikan bimolekul yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi 2007)

Antioksidan ini memperbaiki kerusakan sel – sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Misalnya enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel yaitu metionin reduktase, yang dapat mencegah penyakit kanker. Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu : larut dalam air dan larut dalam lemak. Antioksidan yang larut dalam air meliputi vitamin C dan asam urat, sedangkan antioksidan yang larut dalam lemak meliputi ubiquinon, retinoid, karotenoid, dan tokoferol (vitamin E). Protein plasma, Glutation sulfhidril (GSH), asam urat, vitamin C, karotenoid, retinoid, tokoferol, dan flavonoid merupakan antioksidan yang terdapat dalam makanan (Elliot *et al* 2000).

Pemilihan antioksidan untuk tujuan tertentu dipengaruhi oleh kebutuhan sistem dan sifat antioksidan yang tersedia. Sifat antioksidan yang diharapkan antara lain, harus efektif pada konsentrasi rendah, tidak beracun, mudah dan aman dalam penanganannya, tidak memberikan sifat yang tidak dikehendaki seperti perubahan warna, serta bau, rasa, dan lain – lain (Tranggono *et al*1990)

Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki daya fungsi yaitu : sebagai pemberi atom Hx yang sering disebut antioksidan primer dan sebagai memperlambat laju antioksidan dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidan yang sering disebut sebagai antioksidan sekunder.

2. Mekanisme kerja antioksidan

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan

oleh empat mekanisme reaksi, yaitu pelepasan hidrogen dan antioksidan. pelepasan elektron dari antioksidan, adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan dan pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Ketaren 1986).

3. Metode pengujian antioksidan

Adapun pengujian antioksidan ada beberapa metode yang digunakan yaitu:

3.1. Pengukuran penangkap radikal. Pengujian dengan cara ini dilakukan dengan cara mengukur penangkapan radikal sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol pada suhu kamar. Radikal sintetik yang digunakan adalah DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan ABTS (2,2-azinobis-3-etil benzothiazolin-asam sulfonat) (Desmarchelier *et al* 1998).

3.2. Pengujian aktivitas antioksidan dengan sistem linoleat- tiosianat. Asam linoleat merupakan asam lemak tidak jenuh dengan dua buah ikatan rangkap yang mudah mengalami oksidasi membentuk peroksida. Peroksida ini selanjutnya mengalami ion fero menjadi ion feri bereaksi dengan ammonium.

3.3. Pengujian dengan asam tiobarbiturat (TBA). Pengujian ini berdasarkan adanya malonaldehid yang terbentuk dan asam lemak bebas tidak jenuh dengan paling sedikit mempunyai tiga ikatan rangkap dua. Malonaldehid selanjutnya bereaksi dengan asam tiobarbiturat membentuk produk kromogen yang berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm.

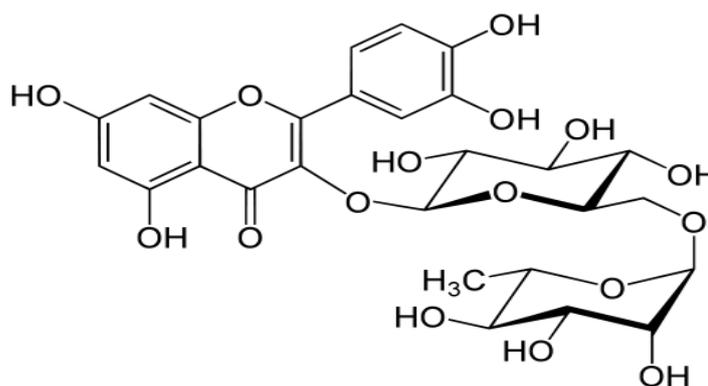
3.4. Pengujian dengan sistem karoten – linoleat. Pengujian ini dilakukan dengan mengamati kecepatan terjadinya pemucatan warna E-karoten. Selain ini juga dilakukan dengan bilangan pengujian peroksida, pengujian dengan bilangan para-anisidin dan pengujian dengan bilangan oktanoat (Pokorni *et al* 2001).

F. Rutin

Rutin adalah flavonoid yang telah dikenal memiliki antioksidan dan inflamasi. Rutin sering digunakan sebagai pembanding pada uji antioksidan karena senyawa ini merupakan antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup

efektif untuk meredam aksi destruktif radikal bebas dan memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,796 $\mu\text{g/ml}$ (Kuntho 2013). 5,606 $\mu\text{g/ml}$ (Ferinanto 2013), 5,56 $\mu\text{g/ml}$ (Yuliasuti 2012). 8,05 $\mu\text{g/ml}$ (Tursiana 2013), 5,11 $\mu\text{g/ml}$ (Madalena 2010). Rutin bersifat polar dan akan mengalami hidrolisis bila direaksikan dengan asam kuat seperti HCL (Harborne 1987).

Rutin mampu mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel melalui beberapa mekanisme, antara lain menangkap radikal oksigen, perlindungan terhadap peroksidasi lipid dan mengkelatkan ion logam. Rutin adalah glikosida flavonol yang terdiri dari aglikon kuersetin dan rutinosa (rhamnosa dan glukosa) sebagai gulanya (Susilowati 2010). Struktur kimia rutin dapat dilihat pada gambar



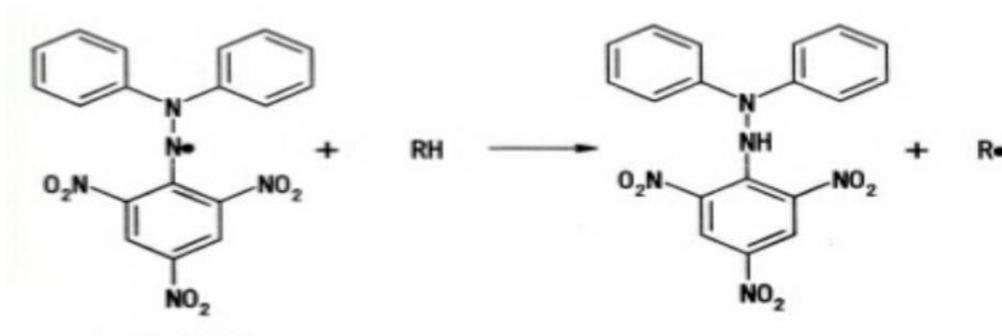
Gambar 2. Struktur kimia rutin (White dan Y. Xing 1951; Madhavi *et al.* 1985; Maslarova 2001)

G. Metode DPPH

Uji DPPH biasanya digunakan untuk menyaring aktivitas antioksidan ekstrak kasar tanaman dan dapat dideteksi dengan konsentrasi rendah (Sanchez-Moreno 2002). Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai *free radical scavengers* atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasikan jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan (Prakash *et al* 2001).

Gugus kromofor dan auksofor pada radikal bebas DPPH memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm sehingga menimbulkan

warna ungu. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring penambahan antioksidan yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan.



Gambar 3. Reaksi DPPH dan Antioksidan (Yamaguchi *et al* 2008).

H. Spektrofotometer

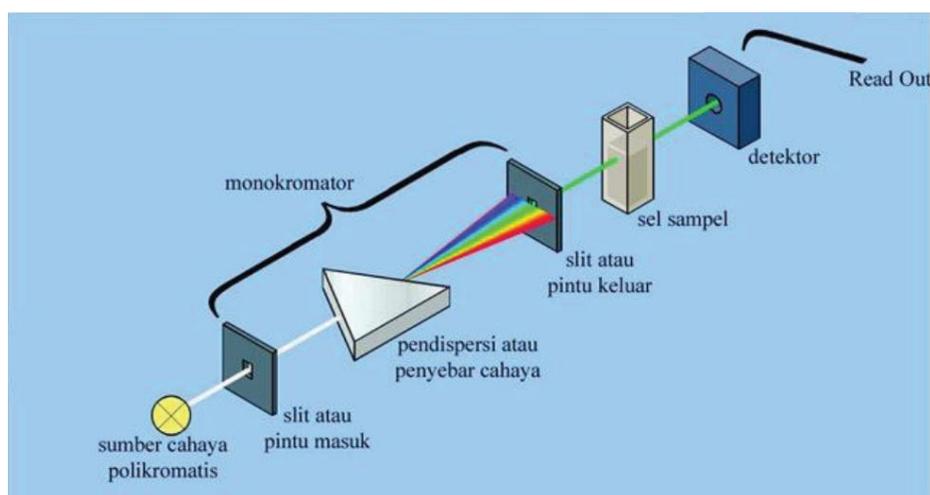
Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron nonikatan (elektron bebas). Sinar ultra lembayung dan sinar tampak merupakan energi, yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, eksitasi elektron-elektron ini, direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi absorban. Pada spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorpsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbonmonooksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal,

yang terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorpsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi.

1. Tipe tipe spektrofotometer UV-Vis

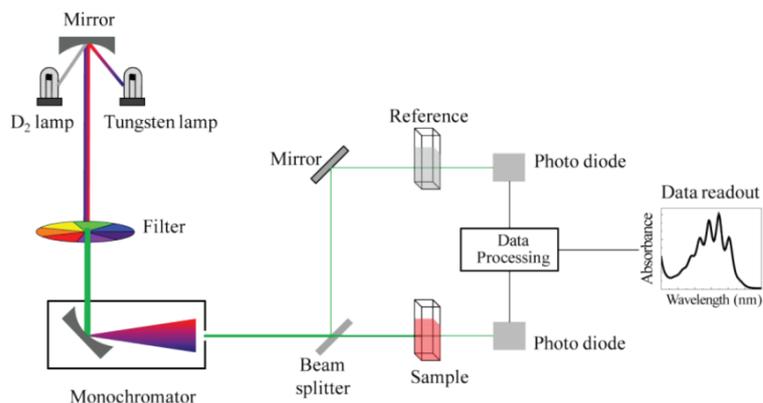
Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam.

1.1. Single-beam. Single-beam dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan single-beam instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm (Skoog, DA, 1996).



Gambar 4. Diagram alat spektrofotometer UV-vis (*Single beam*)

1.2. Double-beam. dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. Double-beam instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Skoog, DA, 1996).



Gambar 5. Skema spektrofotometer UV-vis (Double beam)

2. Prinsip kerja spektrofotometer UV-vis

Cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun wolfram yang bersifat polikromatis diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karena itu terdapat cahaya yang diabsorpsi dan ada juga yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan kemudian akan diterima oleh detektor. Detektor kemudian akan menghitung cahaya yang diterima untuk mengetahui banyak cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Triyati, 1985).

3. Instrumen spektrofotometer UV-vis

Menurut (Khopkar,2003) instrumen spektrofotometer UV-vis adalah :

3.1 Sumber cahaya. Sumber yang biasa digunakan pada spektrofotometer absorpsi adalah lampu wolfram. Pada daerah UV digunakan lampu hidrogen atau lampu deuterium. Kebaikan lampu wolfram adalah energi radiasi yang dibebaskan tidak bervariasi pada berbagai panjang gelombang.

3.2 Monokromator. Monokromator adalah alat yang akan memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen

panjang gelombang tertentu. Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromator dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator terdiri dari susunan: celah (slit)masuk-filter-prisma-kisi (grating)-celah (slit) keluar.

3.3 Wadah sampel (kuvet). Kuvet merupakan wadah sampel yang akan dianalisis. Kuvet terdiri dari leburan silika (kuarsa) dipakai untuk analisis kualitatif dan kuantitatif pada daerah pengukuran 190-1100nm, dan kuvet dari bahan gelas dipakai pada daerah pengukuran 380-1100nm karena bahan dari gelas mengabsorpsi radiasi UV.

3.4 Detektor. Detektor akan menangkap sinar UV yang diteruskan oleh larutan. Sinar kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh amplifier dan dalam rekorder akan ditampilkan dalam bentuk angka angka pada reader (komputer).

3.5 Visual display/Recorder. Merupakan sistem baca yang memperagakan besarnya isyarat listrik yang menyatakan dalam bentuk % transmitten maupun absorbansi.

I. Landasan Teori

Tanaman gedi berdasarkan analisis fitokimia mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, antrakuinon, dan antosianin (Pranowo *et al* 2015). Ekstrak daun gedi dapat digunakan sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Taroreh *et al* 2015). Digunakan sebagai anti hipertensi untuk menurunkan tekanan darah yang tinggi (Sangi *et al* 2008). Ekstrak daun gedi juga diketahui memiliki efek analgesik untuk nyeri (Pritam *et al* 2011).

Flavonoid dalam daun gedi merah yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yaitu quercetin (Taroreh *et al* 2015). Flavonoid yang terdapat dalam tanaman gedi antara lain quercetin-3-O-robinobinosid, hyperin, isoquercetin, myricetin, quercetin-3-O-glucoside dan quercetin yang memiliki aktivitas biologi seperti antiinflamasi, antibakteri, antioksidan, dan aktivitas perlindungan sel membran pada ginjal (Lee *et al* 2004;Wage dan Hadin 1984; Mahakunakorn *et al* 2004; Yokozawa *et al* 1999 dalam Onakpa 2013).

Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk senyawa nonradikal bebas yang tidak reaktif dan relatif stabil (Djamil dan Anelia 2009). Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan (Widodo 2013). Radikal bebas ini berbahaya karena sangat reaktif mencari pasangan elektronnya, jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya akan bertambah banyak, selanjutnya akan menyerang sel sel tubuh sehingga terjadi berbagai penyakit (Khomsan 2009). Antioksidan alami diekstrak dari tanaman obat harganya murah, aman dan sudah tidak ada efek toksik dibandingkan dengan antioksidan BHA yang diketahui memiliki efek toksik dan karsinogenik terhadap kesehatan manusia (Barlow 1990; Chan 1987; Imadia *et al* 1983). Antioksidan dapat digolongkan berdasarkan sumbernya dan berdasarkan mekanisme kerjanya.

Tabel 1. Kekuatan antioksidan dengan senyawa pereaksi DPPH (Armala 2009)

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	101-150 ppm
Lemah	>150 ppm

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan *in vivo* dan *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* dapat menggunakan pereaksi senyawa kimia radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode DPPH merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang mudah dan cepat. Metode ini menggunakan radikal bebas DPPH untuk menguji suatu senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas. Metode ini juga sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai *free radical scavengers* atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta menguantifikasikan jumlah kompleks radikal- antioksidan yang terbentuk.

Metode DPPH dapat juga digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan (Prakash *et al* 2001). Gugus kromofor dan auksokrom DPPH memberikan serapan yang kuat pada panjang 517 dengan warna ungu. Warna

ungu akan berubah menjadi ungu ketika terdapat senyawa antioksidan yang meredam radikal bebas DPPH (Dehpour *et al* 2009).

Rutin sering digunakan sebagai pembanding pada uji antioksidan karena senyawa ini merupakan antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup efektif untuk meredam aksi destruktif radikal bebas dan memiliki nilai IC_{50} sebesar 5,796 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Kuntho 2013). 5,606 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Ferinanto 2013), 5,56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Yuliasuti 2012). 8,05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Tursiana 2013), 5,11 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Madalena 2010). Rutin bersifat polar dan akan mengalami hidrolisis bila direaksikan dengan asam kuat seperti HCL (Harborne 1987). Rutin mampu mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel melalui beberapa mekanisme, antara lain menangkap radikal oksigen, perlindungan terhadap peroksidasi lipid dan mengkhelatkan ion logam.

J. Hipotesis

Berdasarkan uraian sebelumnya dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

1. Fraksi *n*- heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun gedi merah mempunyai aktivitas antioksidan.
2. Ketiga fraksi atau ekstrak etanol yang mempunyai aktivitas teraktif dalam aktivitas antioksidan adalah etil asetat.
3. Nilai IC_{50} dari masing masing ekstrak dan fraksi daun gedi merah berturut-turut yaitu ekstrak dengan nilai 116,66 ppm, fraksi *n* heksan 211,79 ppm, fraksi etil asetat sebesar 84,19 ppm, fraksi air sebesar 95,73 ppm.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah daun gedi merah, yang diambil dari daerah Sawangan Tombulu Kabupaten Minahasa Sulawesi Utara.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gedi merah, secara acak diambil dari bulan Maret 2018 di daerah Minahasa Sulawesi Utara dengan kondisi daun tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun gedi merah, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun gedi merah terhadap radikal bebas DPPH.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanolik daun gedi merah dalam berbagai konsentrasi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya antioksidan dari ekstrak etanolik daun gedi merah, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun gedi merah.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah radikal bebas DPPH, alat, kualitas bahan simplisia dan serbuk daun.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun gedi adalah daun segar yang diambil dari daerah Sawangan Tombulu Kabupaten Minahasa Sulawesi Utara.

Kedua, ekstrak etanol daun gedi adalah ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi daun gedi dengan pelarut etanol 70%, kemudian dipekatkan dengan *vakum evaporator* sampai didapat ekstrak pekat daun gedi merah.

Ketiga, fraksi *n*-heksana adalah bagian dari *n*-heksana dari hasil fraksinasi ekstrak etanolik dengan *n*-heksana dari daun gedi merah yang dipekatkan dengan alat *vacum rotary evaporator* 40°C

Keempat, fraksi etil asetat adalah bagian etil asetat yang diambil dari fraksinasi antara etil asetat dengan lapisan berair sisa partisi dengan *n*-heksana yang kemudian dipekatkan dengan alat *vacum rotary evaporator* 40°C

Kelima, fraksi air adalah bagian air sisa partisi dengan etil asetat yang dipekatkan dengan alat *vacum rotary evaporator* 40°C

Keenam, DPPH adalah radikal bebas sintetik yang stabil dalam larutan metanol pro analisa dengan konsentrasi 80 ppm.

Ketujuh, aktivitas antioksidan adalah kemampuan dari fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air ekstrak etanolik daun gedi merah dalam menangkap radikal bebas DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀.

Kedelapan, IC₅₀ adalah konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat memberikan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan simplisia yang digunakan adalah tanaman gedi merah, simplisia diambil daerah Sawangan Tombulu Kabupaten Minahasa Sulawesi Utara.

Sedangkan bahan untuk karakterisasi adalah etanol 70%, aquades, *n*-heksana, etil asetat, metanol pro analisa, rutin, lempeng silika gel Gel 60 F₂₅₄, *n*-butanol, asam asetat, asam sulfat, sitroborat, xylene, DPPH dari sigma, asam formiat, toluene, asam asetat glasial, FeCl₃, asam galat, saponin, tanin, rutin, sitoborat, gelatin 1% NaCl 2%, serbuk magnesium, amoniak, kloroform, regaen dragendroff, dan FeCl₃, ephedrin, quercetin, asam galat.

2. Alat

Peralatan yang digunakan adalah oven, sterling bidwell, alat penggiling, ayakan ukuran 40 mesh, botol maserasi, kertas saring, kain flanel, corong buchner dan *vacum rotoevaporator*, bejana kromatografi (chamber), lampu UV, spektrofotometri UV-vis, kuvet, labu ukur, pipet volum, corong pisah, pipet tetes, dan alat gelas lainnya.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi daun gedi merah

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman berkaitan dengan ciri ciri mikroskopis dan makroskopis, serta ciri ciri morfologis yang ada pada tanaman terhadap pustaka yang dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret Surakarta, Jawa Tengah.

2. Penyiapan bahan

Bahan simplisia yang digunakan adalah daun tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L), simplisia diambil dari daerah Sawangan Tombulu Kabupaten Minahasa Sulawesi Utara. Kemudian dibersihkan dan dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer* selama 3 hari. Daun yang telah kering digiling dan diayak 40 mesh sehingga diperoleh bubuk daun gedi merah.

3. Pembuatan serbuk

Daun gedi merah diambil pada pagi hari yaitu 3 tangkai daun dari pucuk hingga ke bawah yang masih hijau, dipetik secara langsung dengan tangan. Daun yang telah dikumpulkan disortasi basah atau dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan. Daun yang telah kering disortasi kering dan diserbukkan. Untuk penyeragaman ukuran pengayakan dilakukan pada derajat pengayakan 40 mesh. Setelah itu dilakukan penyimpanan bahan simplisia serbuk daun gedi pada suhu 10° C.

4. Penetapan kadar air daun gedi merah

Penetapan susut kering daun gedi merah dilakukan menggunakan alat *Sterling bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun gedi merah sebanyak 20 gram, dimasukan dalam labu destilasi dan ditambah pelarut xylene sampai serbuk terendam kemudian memasang alat *Sterling bidwell*. Panaskan labu dengan hati hati, dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan *Sterling bidwell*

dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b (Depkes 2008).

5. Pembuatan ekstrak etanolik daun gedi merah

Serbuk daun gedi merah sebanyak 500 g diekstraksi dengan cara maserasi dan dilanjutkan dengan remaserasi. Simplisia direndam dalam pelarut etanol 70% sebanyak 3750 mL selama 5 hari dengan pengadukan tiap 6 jam, selanjutnya disaring. Filtrat 1 dipakai kembali untuk maserasi kedua dengan cairan penyari 1250 mL, dengan cara yang sama dan dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali digojok, kemudian hasil ekstraksi digabungkan. Hasil ekstraksi dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental dengan bobot yang tetap.

6. Pembuatan fraksi

Ekstrak kental diambil 7,5 gram disuspensi dalam 75ml air lalu difraksinasi dengan *n*-heksana 75ml. Fraksinasi dengan *n*-heksana dilakukan sebanyak tiga kali, hasilnya diuapkan sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana.

Lapisan berair sisa partisi dengan *n*-heksana kemudian dipartisi lagi dengan 75ml etil asetat sebanyak 3 kali. Lapisan etil asetat dipekatkan dan dipisahkan dan diperoleh fraksi etil asetat. Bagian bebas etil asetat, dan *n*-heksana dipekatkan, kemudian disebut fraksi air.

7. Penapisan fitokimia senyawa metabolit sekunder

7.1 Tanin. Identifikasi tanin dilakukan dengan memasukkan ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) ke dalam tabung reaksi lalu ditambah aquadest panas sama banyak dan didinginkan lalu ditambahkan 5 ml FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu (Robinson 1995).

7.2 Flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan mengambil ekstrak etanol sebanyak 50 mg dan ditambah 100 mL air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring sehingga diperoleh filtrat yang digunakan sebagai larutan percobaan. Setelah itu dalam 5 mL larutan percobaan ditambah serbuk magnesium dan 1 mL HCL pekat. Selanjutnya ditambah amil alkohol dikocok dengan kuat dan biarkan memisah. Terbentuk warna merah, kuning atau jingga dalam larutan amil alkohol (Depkes, 1995).

7.3 Alkaloid. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak sebanyak 50 mg ditambah 1 ml HCL dan 9 ml aquadest, kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan disaring, kemudian dibagi dalam dua tabung reaksi. Pada tabung kedua dimasukan pereaksi Bouchardat. Hasil dinyatakan positif bila terbentuk endapan coklat sampai hitam.

7.4 Saponin. Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun gedi merah dimasukan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah air panas 10 ml dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Kemudian diamkan 10 menit. Tambahkan 1 tetes HCl 2N dan amati jika terjadi reaksi positif yang ditunjukkan dengan buih yang terbentuk setinggi 1-10 cm dan tidak hilang (Robinson, 1995).

7.5 Antosianin. Sampel dipanaskan dengan HCl 2M selama 2 menit pada suhu 100°C, kemudian diamati warna sampel. Apabila warna merah pada sampel tidak berubah (mantap), maka menunjukkan adanya antosianin (Lestario *et al*, 2011).

7.6 Antrakuinon. Lebih kurang 3 ml sari dalam eter dicampur dengan 1 ml NaOH 10%. Bila larutan berubah menjadi merah, menunjukkan adanya antrakuinon.

8. Identifikasi kandungan kimia dengan uji KLT

8.1 Identifikasi flavonoid. Flavonoid diidentifikasi secara kromatografi lapis tipis pada fase diam silika Gel 60 F₂₅₄ dan dielusi dengan fase butanol : asam asetat : air (4 : 1: 5). Bercak yang terjadi diamati dibawah lampu UV 254 nm dan 366 nm, untuk memperjelas warna bercak disemprot dengan sitroborat. Hasil positif mengandung sitoborat jika menunjukkan warna bercak kuning (Wagner dan Bladt 1995).

8.2 Identifikasi tanin. Tanin diidentifikasi secara KLT pada fase diam silika Gel 60 F₂₅₄ dan dielusi dengan fase gerak kloroform: etil asetat: asam formiat (0,5:9:0,5). Pereaksi penampak menggunakan FeCl₃. Bercak diamati di bawah lampu UV 366 nm dan 254nm . hasil positif jika terjadi bercak berwarna hijau lembayung pada lempeng KLT (Widyowati dan Rahman, 2010).

9. Baku pembanding uji KLT

9.1. Baku pembanding flavonoid. Identifikasi golongan senyawa flavonoid dan standar baku quercetin sebagai baku pembanding dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak metanol : kloroform dengan pereaksi semprot sitroborat. Hasil identifikasi dengan menggunakan UV 254 nm berwarna gelap, UV 366 berflourensensi kuning kehijauan dan sinar tampak bercak berwarna kecoklatan.

9.2. Baku pembanding tanin. Identifikasi senyawa tanin dan standar baku asam galat sebagai baku pembanding dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (3:7) dengan pereaksi semprot FeCl₃. Hasil identifikasi dengan menggunakan UV 254 nm hijau gelap, UV 366 berflourosensi biru kehitaman dan sinar tampak berwarna hitam.

10. Aktivitas daun gedi merah terhadap radikal bebas DPPH

10.1 Pembuatan larutan DPPH. Larutan pereaksi adalah larutan DPPH 80 ppm. Dibuat dengan menimbang 8 mg serbuk DPPH kemudian dimasukan kedalam labu takar 100 ml ditambah dengan metanol p.a ke dalam labu takar sampai tanda batas sehingga didapat konsentrasi 80 ppm.

10.2 Pembuatan larutan uji. Larutan uji berupa fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air ekstrak etanol daun gedi masing masing di timbang 100 mg, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 100ml, lalu ditambah metanol pa sampai tanda batas sehingga didapat konsentrasi 1000 ppm, larutan uji ini disebut larutan stok. Setelah itu dibuat larutan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm (Firdaus, 2018).

10.3 Penyiapan larutan pembanding rutin. Pembuatan larutan stok rutin dibuat dengan konsentrasi 50 ppm. Dengan cara menimbang 5 mg rutin kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Setelah itu dibuat larutan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm (Tenriugi, 2011).

10.4 Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH. Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum larutan DPPH dilakukan dengan cara 2 ml larutan DPPH 80 ppm ditambah 2 ml metanol p.a dikocok sampai homogen dan diamati serapan pada rentang 500-525 nm dengan menggunakan blanko metanol p.a.

10.5 Penentuan *Operating Time* DPPH. Penentuan *operating time* dilakukan dengan 2 mL larutan DPPH 80 ppm ditambah 2 mL metanol p.a dikocok sampai homogen dan diamati serapan pada panjang gelombang maksimum, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit dimana nilai absorbansi stabil.

10.6 Uji aktivitas antioksidan. Setiap konsentrasi larutan uji dipipet 1 ml, kemudian ditambah 1 ml larutan pereaksi DPPH 80 ppm ditambah metanol p.a 3 ml dalam vial, kocok biarkan dalam tempat gelap selama 30 menit kemudian diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan (513 nm). Percobaan dilakukan 3 kali pengulangan. Pengamatan terhadap larutan kontrol dari 2 ml metanol ditambah 2 ml DPPH 80 ppm.

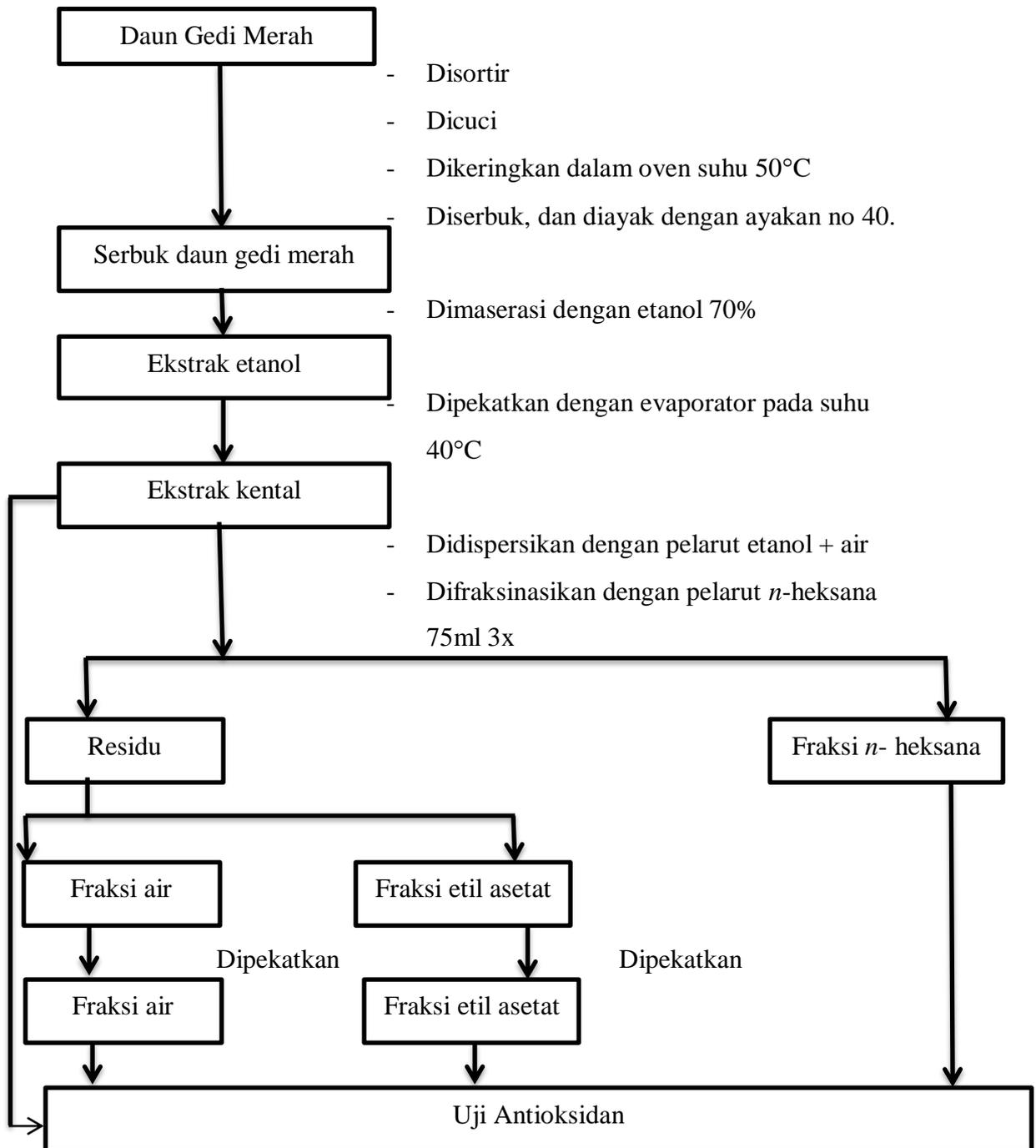
E. Analisa Hasil

Potensi aktivitas antioksidan dapat dilihat dari kekuatan menetralkan radikal DPPH. Aktivitas penangkap radikal bebas dari fraksi n-heksana fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak etanolik daun gedi yang dinyatakan dengan harga IC_{50} . Absorbansi yang didapatkan secara spektrofotometri UV-Vis setelah pendiaman selama waktu yang ditetapkan dari *operating time* digunakan untuk menghitung % peredaman (Caroline 2005).

$$\text{Peredaman (\%)} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Harga IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier antara probit sebagai sumbu y dan log konsentrasi sebagai sumbu x. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan, begitupula sebaliknya semakin besar nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidanya semakin rendah. Nilai IC_{50} yang diperoleh kemudian dianalisa secara statistik menggunakan PASW Statistics 18 dengan uji *Oneway* ANOVA dilanjutkan uji *Post Hoc Test Tukey* untuk mengetahui perbedaan signifikan dari IC_{50} ($\alpha = 0,05$)

F. Skema Penelitian



Gambar 6. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun gedi merah (*abelmoschus manihot* L)

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L)

Tujuan dilakukan determinasi tanaman yaitu untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian dengan cara mencocokkan ciri morfologi tanaman gedi merah terhadap pustaka dan dibuktikan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hasil dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun gedi merah

Daun gedi merah dalam penelitian ini diperoleh dari Sawangan Tombulu Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara pada bulan April 2018. Daun gedi merah yang berwarna hijau dengan berat 6,3 Kg dibersihkan menggunakan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Daun gedi merah kemudian dioven pada suhu 50°C. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang dapat menyebabkan jamur. Proses pengeringan didapat berat kering sebanyak 1,2 Kg. Daun gedi merah yang telah mengering dilakukan penyerbukan dengan alat penggiling. Setelah itu dilakukan penyerbukan dengan ayakan mesh 40 untuk mendapatkan serbuk halus yang bertujuan untuk memperluas ukuran partikel simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga penyaringan berlangsung efektif. Penentuan persentase simplisia dilakukan dengan cara berat basah daun gedi merah dibandingkan dengan berat kering daun gedi merah. tabel 2 menunjukkan hasil presentase rendemen simplisia. Hasil dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 2. Rendemen simplisia daun gedi merah.

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Rendemen (%)
6300	1200	19,05

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil rendemen daun gedi merah sebesar 19,05% dari berat basah daun 6300 g dan berat kering serbuk sebesar 1200 g.

3. Pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah

Pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan dengan metode maserasi. metode ini bertujuan untuk penyarian yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari, menghindari kerusakan zat aktif akibat pemanasan dan paling sederhana serta cepat dilakukan. Etanol 70% digunakan sebagai cairan penyari karena sifat etanol yang tidak beracun dan mudah menarik keluar senyawa aktif dari dalam sel dan dapat bercampur dengan air sebagai perbandingan. Selain itu etanol memiliki titik didih rendah sehingga mudah dan cepat diuapkan (Depkes 1986).

Serbuk daun gedi merah sebanyak 500 g diekstraksi dengan cara maserasi dan dilanjutkan dengan remaserasi. Simplisia direndam dalam pelarut etanol 70% sebanyak 3750 mL selama 5 hari dengan pengadukan tiap 6 jam, selanjutnya disaring. Filtrat 1 dipakai kembali untuk maserasi kedua dengan cairan penyari 1250 mL, dengan cara yang sama dan dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali digojok, kemudian hasil ekstraksi digabungkan. Hasil ekstraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental dengan bobot yang tetap. Hasil dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 3. Rendemen ekstrak daun gedi merah

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	55,909	11,1

Dari hasil penelitian yang dilakukan didapatkan hasil rendemen ekstrak etanol daun gedi merah sebesar 11,1% dari berat serbuk 500 gram, dan didapatkan berat ekstrak kental sebesar 55,909 gram.

4. Penetapan kadar air serbuk daun gedi merah

Penetapan susut kering daun gedi merah dilakukan menggunakan alat *Sterling bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun gedi merah sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambah pelarut xylene sampai serbuk terendam kemudian memasang alat *Sterling bidwell*. Panaskan labu dengan hati-hati, dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan *Sterling bidwell*

dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b (Depkes 2008).

Tabel 4. Penetapan kadar air serbuk daun gedi merah

Berat serbuk (g)	Volume terbaca (mL)	Kadar air (%)
20	1,8	7,5
20	1,9	7
20	1,8	7
Rata-rata±SD		9,16±0,28

Penetapan kadar air serbuk daun gedi merah dilakukan dengan tiga kali replikasi dan kadar air serbuk daun gedi merah yang telah ditetapkan yaitu sebesar 9,16%, hasil tersebut telah memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10%, sehingga dalam penyimpanan tidak mudah untuk ditumbuhi mikroba. Perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 5.

5. Perhitungan rendemen fraksi n-heksan, etil asetat, dan air daun gedi merah

Ekstrak kental diambil 7,5 gram disuspensi dalam 75ml air lalu difraksinasi dengan n-heksana 75ml. Fraksinasi dengan *n*-heksana dilakukan sebanyak tiga kali, hasilnya diuapkan sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana.

Lapisan berair sisa partisi dengan *n*-heksana kemudian dipartisi lagi dengan 75ml etil asetat sebanyak 3 kali. Lapisan etil asetat dipekatkan dan dipisahkan dan diperoleh fraksi etil asetat. Bagian bebas etil asetat, dan *n*-heksana dipekatkan, kemudian disebut fraksi air. Hasil dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 5. Hasil fraksinasi ekstrak daun gedi merah

Bobot ekstrak (gram)	Pelarut	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%b/b)
30	n-heksana	1,24	4,13
	Etil asetat	2,73	7,91
	Air	11,2	37,3

Pada penelitian dari bobot total ekstrak 30 gram yang digunakan untuk fraksinasi didapat hasil setelah fraksinasi untuk fraksi *n* heksan dengan warna larutan hijau kekuningan sebesar 1,24 gram, etil asetat dengan warna hijau kecoklatan sebesar 2,73 gram dan fraksi air dengan warna coklat pekat sebesar 11,2 gram.

6. Identifikasi kandungan kimia daun gedi merah

Serbuk dan ekstrak daun gedi merah yang diperoleh dilakukan identifikasi kimia. Hasil identifikasi kimia ekstrak dan serbuk dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun gedi merah

Kandungan Kimia	Hasil Penelitian	Pustaka	Interpretasi hasil	
			Ekstrak	Serbuk
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	Warna jingga pada lapisan amil alcohol (Depkes, 1955)	+	+
Tanin	Warna hijau violet	Terbentuk warna hijau violet (Depkes, 1955)	+	+
Saponin	Buih tinggi 1-10 cm	Buih tinggi 1-10 cm (Robinson, 1955)	+	+
Alkaloid	Endapan warna cokelat	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat (Depkes, 1955)	+	+
Antosianin	Terbentuk warna merah	Terbentuk warna merah mantap (Lestario et, 2011)	+	+
Antrakuinon	Terbentuk warna merah	Terbentuk warna merah	+	+

Berdasarkan hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder menunjukkan bahwa ekstrak dan serbuk daun gedi merah positif mengandung tanin, alkaloid dan flavonoid saponin antrakuinon, dan antosianin.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia masing masing fraksi daun gedi merah

Kandungan Kimia	Hasil Penelitian			Pustaka	Interpretasi hasil		
	Fraksi n heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air		Fraksi n- heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid	Lapisan amil berwarna jingga	Lapisan amil berwarna jingga	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	Warna jingga pada lapisan amil alcohol (Depkes, 1955)	+	+	+
Tanin	Warna hijau violet	Warna hijau violet	Warna hijau violet	Terbentuk warna hijau violet (Depkes, 1955)	+	+	+
Saponin	Terbentuk lapisan 2 tanpa buih	Hijau kecoklatan tanpa buih	Buih tinggi 1-10 cm	Buih tinggi 1-10 cm (Robinson, 1955)	-	-	+
Alkaloid	Terjadi kekeruhan	Endapan cokelat	Terjadi kekeruhan	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat (Depkes, 1955)	+	+	+
Antosianin	Terbentuk warna hijau bening	Terbentuk warna hijau	Terbentuk warna merah mantap	Terbentuk warna merah mantap (Lestario et, 2011)	-	-	+
Antrakuinon	Terbentuk warna hijau pudar	Terbentuk warna merah mantap	Terbentuk warna merah mantap	Terbentuk warna merah	-	+	+

Berdasarkan hasil identifikasi didapatkan hasil dari masing masing fraksi dimana fraksi n heksan positif mengandung flavonoid, tanin, dan alkaloid, fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, dan antrakuinon, dan fraksi air positif mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, antrakuinon dan antosianin. Pada identifikasi saponin didapat hasil negatif pada fraksi n heksan dan fraksi etil asetat, hal ini terjadi karena kelarutan saponin yaitu larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Kemudian pada antosianin terjadi hasil negatif pada fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat karena antosianin larut dalam air (Lewis *et al* 1997; Li, 2009). Antrakuinon didapat hasil negatif pada fraksi n heksan karena kelarutan antrakuinon pada air (polar) dan n heksan bersifat non polar.

7. Identifikasi KLT

Identifikasi kromatografi lapis tipis bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia fraksi n heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol daun gedi merah. senyawa yang diidentifikasi adalah flavonoid, dan tanin. Hasil kromaografi lapis tipis (KLT) pada fraksi n heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak daun gedi merah dapat dilihat lampiran 10.

Bercak yang timbul pada lempeng KLT kemudian dihitung nilai Rf dan hRf nya untuk mengetahui keberadaan kandungan senyawa ekstrak dan masing masing fraksi.

Tabel 8. Hasil identifikasi flavonoid secara kromatografi lapis tipis

SAMPEL	Rf	Pustaka	Detektor		Pendeteksi
			UV 254	UV 366	
Ekstrak	0,8	Kuning (Wagner dan Blatt, 1955)	Hitam	Berflouresensi Biru	Sitrobrat
Fraksi n heksan	0,78	Kuning (Wagner dan Blatt, 1955)	Kuning	Berflouresensi Biru	Sitroborat
Fraksi etil asetat	0,8	Kuning (Wagner dan Blatt, 1955)	Kuning	Berflouresensi Merah muda	Sitroborat
Fraksi air	0,8	Kuning (Wagner dan Blatt, 1955)	Hitam	Berflouresensi Biru	Sitroborat
Kuersetin	0,8	Kuning kehijauan atau bercak kecoklatan	kuning	Berflouresensi Biru	Sitroborat

Dari identifikasi KLT yang telah dilakukan untuk flavonoid dengan fase diam silika gel dan fase gerak butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4 : 1 : 5. Diperoleh hasil identifikasi KLT terlihat pada UV 254 adanya noda

berwarna hitam dan pada UV 366 bercak berflouresensi biru dengan masing masing sampel memiliki nilai Rf yang mendekati nilai kuersetin yaitu 0,8. Diduga daun geddi merah mengandung senyawa golongan flavonoid.

Tabel 9. Hasil identifikasi tanin secara kromatografi lapis tipis

Sampel	Rf	Pustaka	Detektor		Pendeteksi
			UV 254	UV 366	
Ekstrak	0,84	Hijau lembayung (Widyowati dan Rahman, 2010)	Hitam	Berflouresensi hijau lembayung	FeCl ₃
Fraksi n heksan	0,87	Hijau lembayung (Widyowati dan Rahman, 2010)	Hitam	Berflouresensi merah muda	FeCl ₃
Fraksi etil asetat	0,85	Hijau lembayung (Widyowati dan Rahman, 2010)	Hitam	Berflouresensi hijau lembayung	FeCl ₃
Fraksi air	0,86	Hijau lembayung (Widyowati dan Rahman, 2010)	Hitam	Berflouresensi hijau lembayung	FeCl ₃
Asam galat	0,87	Berflouresensi biru dan sinar tampak berwarna hitam	Hitam	Berflouresensi biru	FeCl ₃

Hasil identifikasi KLT yang telah dilakukan untuk tanin dengan fase diam silika gel dan fase gerak kloroform: etil asetat: asam formiat (0,5:9:0,5), didapat hasil identifikasi KLT terlihat pada UV 254 adanya noda berwarna hitam dan pada UV 366 berflouresensi hijau lembayung dengan nilai Rf masing masing sampel mendekati nilai Rf asam galat yaitu 0,87. Diduga bahwa daun geddi merah mengandung senyawa tanin.

8. Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH

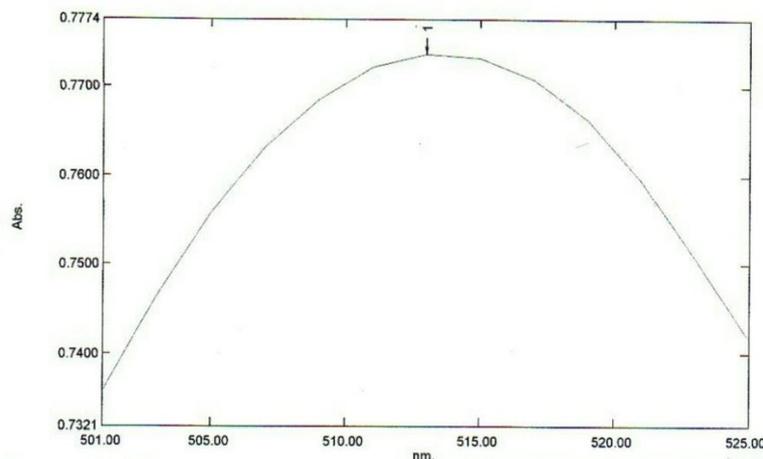
8.1 Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang optimum yang mampu memberikan serapan absorbansi yang paling tinggi. Panjang gelombang maksimum ditentukan untuk meminimalkan kesalahan pada saat pengukuran dan meningkatkan kepekaan karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar.

Pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan larutan stok DPPH 80 ppm dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 500-525 nm. Menggunakan blanko metanol p.a. Hasil panjang gelombang maksimum yang didapatkan yaitu 513 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang dapat dilihat pada lampiran 18.

Spectrum Peak Pick Report

07/14/2018 07:54:27 AM

Data Set: pjg gel maks devi - RawData



Gambar 7. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum

8.2 Hasil penetapan *Operating Time*. Penentuan *operating time* merupakan waktu yang tepat untuk pembacaan serapan larutan yang diperiksa pada saat serapannya stabil pada kurva *operating time*, digunakan untuk menentukan kestabilan absorbansi senyawa DPPH setelah direaksikan dengan senyawa uji. Sampel yang digunakan yaitu sampel yang berwarna, hal ini digunakan untuk mencari menit seberapa terjadi kesetabilan. Hasil pengukuran *operating time* rutin dimulai dari menit ke-26 sampai menit ke-30. Sehingga penelitian ini menggunakan waktu menit 30 untuk *operating time* (Sagar B 2011). Hasil penentuan *operating time* dapat dilihat pada lampiran 18.

8.3 Hasil pengujian aktivitas antioksidan terhadap DPPH. Potensi antioksidan penangkap radikal ditentukan dengan menggunakan DPPH, suatu radikal sintetik yang stabil dalam larutan air atau metanol dan mampu menerima sebuah elektron atau radikal hidrogen untuk menjadi molekul diamagnetik yang stabil. Perubahan warna violet DPPH menjadi kuning diikuti penurunan serapan pada panjang gelombang maksimum (513nm), ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang dapat dilihat dari % peredaman. DPPH pada uji ini ditangkap oleh antioksidan yang melepaskan hidrogen, sehingga membentuk DPPH tereduksi (DPP-hidrazin).

Tabel 10. Hasil rata-rata nilai absorbansi daun gedi merah

Sampel	Rata-rata konsentrasi	Rata-rata absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀
Ekstrak etanol	20	0,63	18,61	116,66
	40	0,57	26,35	
	60	0,50	35,41	
	80	0,47	39,27	
	100	0,42	45,74	
Fraksi n-heksan	20	0,66	14,72	211,778
	40	0,62	19,90	
	60	0,59	23,77	
	80	0,58	25,06	
	100	0,54	30,23	
Fraksi etil asetat	20	0,62	19,90	84,19
	40	0,54	30,23	
	60	0,47	40,86	
	80	0,40	48,32	
	100	0,34	56,07	
Fraksi air	20	0,61	21,18	95,73
	40	0,57	26,36	
	60	0,50	35,40	
	80	0,42	45,74	
	100	0,38	50,90	
Rutin	2	0,52	32,82	9,52
	4	0,50	35,40	
	6	0,45	41,86	
	8	0,41	47,03	
	10	0,38	50,90	

Hasil dari tabel pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa Semakin besar konsentrasi larutan antioksidan yang diberikan maka konsentrasi DPPH akan semakin berkurang. Berkurangnya konsentrasi DPPH dapat terlihat dari absorbansi yang menurun, pada ekstrak daun gedi merah konsentrasi 20 ppm menunjukkan nilai absorbansi 0,63, kemudian pada konsentrasi 100 ppm terjadi penurunan nilai absorbansi menjadi 0,42, fraksi n heksan pada konsentrasi 20 ppm menunjukkan nilai absorbansi rata-rata 0,66, kemudian dengan meningkatnya konsentrasi menjadi 100 ppm maka terjadi penurunan absorbansi menjadi 0,54 ppm, fraksi etil asetat pada konsentrasi 20 ppm menunjukkan nilai absorbansi 0,62 dan menunjukkan penurunan absorbansi pada konsentrasi 100 ppm menjadi 0,34, fraksi air menunjukkan nilai 0,61 pada konsentrasi 20 ppm dan mengalami penurunan nilai absorbansi rata-rata pada konsentrasi 100 ppm menjadi 0,38, dan

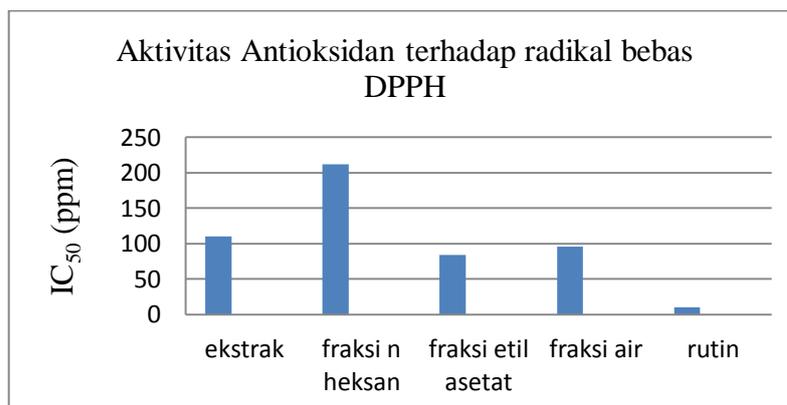
rutin menunjukkan nilai 0,52 pada konsentrasi 2 ppm, kemudian mengalami penurunan absorbansi menjadi 0,38 pada konsentrasi 10 ppm.

Pengujian antioksidan fraksi n heksan, etil asetat dan fraksi air daun gedi merah dilakukan dengan 3 kali replikasi, pembanding yang digunakan adalah rutin karena rutin merupakan suatu senyawa antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup efektif guna meredam radikal bebas. Parameter yang digunakan dalam mengukur kekuatan antioksidan digambarkan dengan nilai IC_{50} . IC_{50} merupakan konsentrasi antioksidan dalam menghambat atau meredam 50% radikal bebas. Semakin kecil IC_{50} maka semakin besar prosentase dalam menghambat radikal bebas. IC_{50} didapatkan dari memplotkan konsentrasi dengan % peredaman melalui persamaan regresi linier. Membaca absorbansi menggunakan alat spektrofotometri UV-vis yang memiliki prinsip spektrum elektromagnetik dalam beberapa daerah cahaya, suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti.

Berdasarkan hasil pengujian didapatkan nilai rata rata IC_{50} ekstrak etanol daun gedi merah sebesar 116,66 ppm, perhitungan dapat dilihat pada lampiran 14, fraksi n heksan sebesar 211,79 ppm, fraksi etil asetat sebesar 84,19 ppm, sedangkan fraksi air sebesar 95,73 ppm. Yang artinya ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan sedang (101-150 ppm), fraksi n heksan memiliki aktivitas antioksidan lemah (>150 ppm), dan fraksi air, serta etil asetat memiliki aktivitas antioksidan kuat (50-100 ppm) perhitungan dapat dilihat pada lampiran 15. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi dan ekstrak daun gedi merah mengandung flavonoid sehingga mampu meredam radikal bebas.

Tabel 11. Kekuatan antioksidan dengan senyawa pereaksi DPPH (Armala 2009)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	<50 $\mu\text{g/ml}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/ml}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g/ml}$
Lemah	>150 $\mu\text{g/ml}$

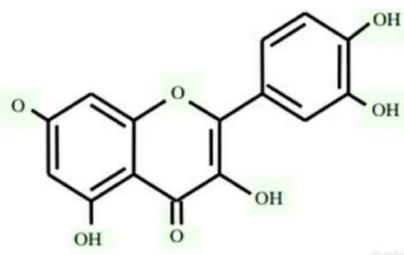


Gambar 8. Hasil aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH

Tabel 12. Aktivitas antioksidan larutan uji berdasarkan nilai IC₅₀

Larutan uji	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak	116,66
Fraksi n-heksan	211,79
Fraksi etil asetat	84,19
Fraksi air	95,73
Rutin	9,52

Pada tanaman gedi merah terdapat antioksidan kuat yaitu flavonoid dan tanin, yang berfungsi sebagai prekursor penangkap (scavenger) senyawa radikal oksigen (ROS). Tanin memiliki aktivitas antioksidan yang berfungsi sebagai pengikat unsur logam berbahaya dalam tubuh sedangkan flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogenya atau melalui kemampuan mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas disebut aglikon (Cuppett *et al*, 1954).



Gambar 9. Kerangka C₆-C₃-C₆ Flavonoid

Nilai IC₅₀ fraksi n heksan didapatkan nilai yang paling besar, dimungkinkan senyawa antioksidan yang terkandung pada fraksi *n*-heksan lemah

hal ini terjadi karena *n*-heksan merupakan pelarut non polar, dimana senyawa yang dapat larut oleh *n*-heksan adalah senyawa senyawa yang bersifat non polar seperti lemak, steroid, terpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Depkes 1987). Hal ini menunjukkan bahwa untuk meredam warna radikal bebas hingga setengah konsentrasinya terjadi pada fraksi etil asetat, karena etil asetat merupakan pelarut semi polar, dan senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah alkaloid, flavonoid dan polifenol. Dimana yang berperan sebagai antioksidan yaitu senyawa flavonoid (Harborne 1987).

Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida serta dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (Robinson 1995). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan, meredam radikal bebas dan menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga mengurangi terjadinya kerusakan sel (Hermani dan Raharjo 2005).

Rutin merupakan glikosida flavonoid yang digunakan sebagai kontrol positif karena telah terbukti aktivitas antioksidannya. Pada penelitian kali ini nilai IC_{50} rutin sebesar 9,52 ppm sehingga termasuk ke dalam antioksidan sangat kuat <50 ppm. Jika dibandingkan dengan ekstrak etanol 84,19 ppm maka aktivitas dalam menangkal radikal bebas lebih kuat rutin, karena rutin merupakan suatu senyawa antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup efektif guna meredam radikal bebas. Berdasarkan uji oneway ANOVA nilai IC_{50} antara rutin dan ekstrak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Secara keseluruhan berdasarkan nilai IC_{50} diketahui bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil diantara ekstrak etanolik, fraksi *n* heksan, dan fraksi air, yaitu 84,19 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa aktif yang potensial meredam radikal bebas dan dapat dikembangkan sebagai antioksidan alami.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Penelitian dengan metode DPPH, etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun gedi merah memiliki aktivitas sebagai antioksidan.
2. Fraksi etil asetat daun gedi merah memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya, dengan nilai 84,19 ppm.
3. Nilai IC_{50} masing masing fraksi dan ekstrak pada fraksi n heksan 211,79 ppm, fraksi etil asetat 84,19 ppm, fraksi air 95,73 ppm, ekstrak etanolik 116,66 ppm, dan rutin sebesar 9,52 ppm.

B. Saran

1. Perlunya dilakukan penelitian antioksidan daun gedi merah dengan metode lain agar dapat diketahui potensinya terhadap jenis radikal bebas yang lain.
2. Perlunya penelitian lanjutan untuk isolasi senyawa dari daun gedi merah untuk mengetahui senyawa antioksidannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ammar, R.B., Bhourri, W., Sghaier, M.B., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Marriotte, A.M, Ghedira, L.C., Franca, M.G.D. dan Ghedira. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry* 116: 258-264.
- Anonim, 1997, *Materia Medika Indonesia*, Jilid I, 100-105, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Jakarta: Indonesia University Press hlm 605-606
- Armala, M.M., 2009, Daya Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Herba Kenikir (*cosmos caudatus* H. B. K.) dan Profil Klt, *skripsi*, 39, Fakultas Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Asep Muhammad Samsudin dan Khoiruddin, Ekstraksi, Filtrasi Membran dan Uji Stabilitas Zat Warna Dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*)", laporan penelitian, jurusan teknik kimia, fakultas teknik kimia. fakultas teknik, Universitas Diponegoro, Semarang, 2009.
- Barlow, S.M. 1990. Toxicology aspects of antioxidants used as food additives.
- Basset J, Denney RC, Jeffery G.H, Mendham J. 1994. Buku ajar vogel: *Kimia Analisis Kuantitatif Organik*. Edisi 4. Jakarta: EGC. Hlm 228-229.
- Bhunshan Gandhare, Kavimani S and Raj Kapoor B., *Antiulcer activity of methanolic extract of Ceiba oentadra Linn Gaertn on rats*. *Phcog res*, 2; 2010; 26-30
- Číž, M., Hana Č., Petko D., Maria, K., Anton, S., Antonin, L. 2010. Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables, *Food Control* 21: 518-523 (2010) Markham, 1988; Harborne, 1987).
- Cupett, S., M. Schrepf and C. Hall III. (1954). *Natural Antioxidant-Are they Reality*. Dalam Foreidoon Shahidi: *Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Aplication*, AOCS Press, Champaign, Illinois 12-24.
- Dalimartha, Setiawan. 2008. *Care Your Self Hipertensi*. Penebar Plus : Jakarta
- Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1) Jilid 1*. Jakarta: Depkes RI

- Dephour, A.A., Ebrahimzades, M.A., Fazel, N.S., and Mohammad, N.S., 2009, Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Ferula Assafoetida* and Its Essentials Oil Composition, *Grasas Aceites*, 60(4), 405-412
- Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Desmarchelier, P.M., and Grau, F.H., 1997, Foodborne Microorganism of Public Health Significance 5th edition, AIFST (NSW Branch) Food Microbiology Group, New South Wales.
- Dinis d Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. dan Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 315: 161-169. kk. (1994).
- Ditjen POM, Depkes RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9-11,16.
- Djamil, R. dan Anelia, T. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol.7(1).
- Elliot, S.N, et al. (2000). *Educational psychology : Effective teaching, effective learning*. Singapore : Mc Graw- Hill Book.
- Ferinanto, V. 2013. Aktivitas antioksidan fraksi n- Heksan, etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun randu (*Ceiba Petandra Gaertn*) terhadap radikal DPPH (1-1 diphenyl-2 picrylhydrazil) [Skripsi], Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Firdaus, M. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap radikal bebas DPPH dan aktivitas enzim glutation peroksidase pada tikus diabetes [skripsi], Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Food Antioxidants, edited by Hudson, B.J.F. *New York: Elsevier. p. 253*.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid ke-1 Yogyakarta: Penebar Swadaya. Hlm 9.
- Halliwell, B., and J.M.C. Gutteridge. 1991. *Free Radicals in Biology and Medicine* 2th edition. Oxford University Press, New York.
- Halliwell, B and Gutteridge, J. M. C., 2000, *Free Radical in Biology and Medicine*, Oxford University Press, New York.

- Harborne. 1987. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Penerjemah; Kosasih Padmawinta. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hermani, Rahardjo M. 2005. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Jakarta : *penebar Swadaya*. Hal 9-10, 10-11 & 15.
- Hidayat, N., dan Saati, E.A. (2006). *Membuat pewarna alami*. Surabaya: Penerbit Trubus Agrisarana. Hal. 35.
- Jeni, T. (1992). Pemeriksaan Kandungan Kimia Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.Medik). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Jiang, J. dan Eldin, A.F. (1996). Comparing methylene blue-photosensitized oxidation of methyl-conjugated linoleate and methyl linoleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 923-927.
- Ketaren S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press. Hlm 125.
- Khomsan A. 2009. *Rahasia Sehat Dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Kompas Media Nusantara: 12.
- Khopkar, S. M. (2003). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penerjemah A. Saptorahardjo. Cetakan Pertama. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia: 215-217.
- Kuncahyo I, Sunarto. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Etrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Terhadap *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi*; Yogyakarta, 24 November 2007. ISSN : 1978– 9777.
- Kuntho R.S 2013. Uji Aktivitas antioksidan fraksi n-Heksan, etil asetat, dan fraksi air daun pulutan (*Urena lobata L.*) terhadap radikal bebas DPPH (1-1 diphenyl, 2-picrylhidrazil) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Kusuma, H. 2002. *Manajemen Produksi dan Pengendalian Produksi*. Yogyakarta: Andi
- Labay, P. M. 2002. Ethnobotanical and phytochemical studies on beneficial flora of Marinduque. PCARRD Highlights 2002:75-78. http://maidon.pcarrd.dost.gov.ph/index.php?option=com_content&task=view&id=1076&Itemid=748. Download 20 Des. 2010.

- Lee, H.H., Koo, N. dan Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety* 3: 21-33.
- Lewis et al. (1997). *Medical surgical nursing. Assesment and management of clinical problem* (5^{ed} ed). Philadelphia: Mosby.
- Lin-lin W., Xin-bo Y., Zheng-ming H., He-zhi L, Guang-xia W., 2007, In vivo and in vitro antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot* (L) medik, *ActaPharmacol Sin* 28 (3):404-409.
- Liu, B. dan Zhu, Y. (2007). Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids. *Journal of Food Engineering* 78: 584-587.
- Liu, Y., W. Li., X. Ling., X. Lai., Y. Li., Q. Zhang., Y. Zhao. 2008. Simultaneous Determination of the Active Ingredients in *Abelmoschus manihot* (L.) Medicus by CZE. *Chromatographia* 2008, 67, may (No 9/10).
<http://www.spinerlink.com/content/g735221035u11035/fulltext.pdf>.
 Download 8 Nov. 2010.
- Liu, Y., Xianyin L., Xiaomei L., Yuying Z., Jingrong C. 2006. Interactions Between Thrombin with Flavonoids from *Abelmoschus manihot* (L.) Medicus by CZE. *Chromatographia* 2006 (64): 45
- Madalena L. 2010. Aktivitas antioksidan herba kate mas (*Euphorbia Heterophylla* L.) terhadap radikal bebas DPPH (1-1 diphenyl 2, picrylhirazil). *Jurnal Farmasi Indormasi* 7 (2) : 78-83
- Mandey JS, Soetomo H, Sjoifjan O, Tulung B, 2013. *The effect of native gedi leaves (Abelmoschus manihot L) of Northern Sulawesi-Indonesia as a source of freedstuff on the performance broilers*
- Mateus N, de Freitas V. 2009. Anthocyanins as food colorants. In: Gould K, Daves K, Winefield C (eds). *Anthocyanins Biosynthesis, Funcions, and Aplication*. New York Springer.
- Mustarichie, R., Musfiroh, I., dan Levita J., 2011, *Metode Penelitian Tanaman Obat, Teori Dan Implementasi Penelitian Tanaman Untuk Pengobatan*, Widya Padjajaran, Bandung.
- Plantamour (Situs Dunia Tumbuhan). 2010. Informasi Spesies. Daun Gedi *Abelmoschus manihot* L.
<http://www.plantamour.com/index.php?/plant=2>. Download 3 Des. 2010.
- Pokorni, J., N. Yanishlieva, and M. Gordon. 2001. *Antioxidant in Food*. CRC Press, Boca Raton, USA.

- Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E., 2001, Antioxidant Activity: Medallion Laboratories, *Analytical Progress*, 19 (2), 1-4. Sujatha
- Pranowo, Eko Andri. 2013. Standarisasi Simplisia. Surabaya : Universitas Airlangga
- Pritam SJ, Amol AT, Sanjay BB, Sanjay JS. 2011. Analgesic Activity of *Abelmoschus manihot* Extract. *International Journal of Pharmacology*. 7(6): 716-720. Doi: 10.3923/ijp.2011.716.720.
- Puel C, Mathey J, Davicco M, Labecque P, Chanteranne B, Horcajada M and Coxam V. 2005. Preventive effect of (*Abelmoschus manihot* L) on bone loss in the ovariectomised rats. *J Ethnopharmacology*. 99:655-660
- Rewatkar, K. K., A. Ahmed., Mohd. I. Khan., N. Ganesh. 2010. A Landmark Approach to Aphrodisiac Property of *Abelmoschus manihot* L. *International Journal of Phytomedicine*2(2010):312-319.<http://www.arjournal.org/phytomed/intjphytomedicine21/ijpm.2010.0975.0185,02044.pdf>. Download 22 Des. 2010.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Penerjemah; Kosasih Padwawinta. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituent Of Higher Plant*
- Salonen, J.T. 1995. The Role of Lipid Peroxidation and Natural Antioxidants in Cardiovascular Diseases. Dalam Kumpulainen, J.T., and J.T. Salonen (Eds). *Natural Antioxidants and Food Quality in Atherosclerosis and Cancer Prevention*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Santoso, (2006), *Menggunakan SPSS Untuk Statistik Non Parametrik*, Jakarta: PT. Elex Media Komputindo
- Shao-Yu Z., Nai-Ning S., Wen-Yuan G., Wei J., Hong-Quan D., Pei-Gen X., 2006, Progress in the treatment of chronic glomerulonephritis with traditional Chinese medicine, *Asian Journal of Pharmacodynamic and Pharmacokinetics* 6 (4): 317 – 325.
- Sirait M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung (Hlm. 55-69; 93-122; 131-133; 147-148)
- Skoog, D.A., West, D.M. dan Holler, F.J. (1996). *Fundamental of Analytical Chemistry*. 7th ed. New York: Saunders College Publishing: 572-574.
- Supriyanto, Haryadi, Raharjo B, Marseno DW. 2006. Aktivitas Antioksidan ekstrak polifenol kasar dari kakao hasil penyaringan menggunakan energi gelombang mikro. *Jurnal Industri dan Teknologi Pangan* 17 (13):1-7. <http://agris.fao.org/agrissearch/search/displaydo?f=1987/IN/IN87005.xml;IN8700178>. Download 12 Des. 2010.

- Suryanto, E., Raharjo, S., Sastrohamidjojo, H. dan Tranggono (2006). Aktivitas antioksidan dan stabilitas ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap panas, cahaya fluoresen dan ultraviolet. *Agritech* 25(2): 63-69.
- Suryanto, E., Raharjo, S., Sastrohamidjojo, H. dan Tranggono. (2005). Efek antioksidatif ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap asam linoleat. *Agritech* 25(4): 63-69.
- Taroreh, M., Raharjo, S., Hastuti, P., Murdiati, A., 2015, Ekstraksi Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L) Secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya, *Agritech*, 35(3),280-286.
- Tenriugi, A.D.P, Alam G, Attamim F. 2008. Standarisasi Mutu Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L) dan Uji Efek Antioksidan Dengan Metode DPPH(jurnal).
<http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/d1043b1ce802ee8dbcb6f1dbb5626d55.pdf>
Diakses 28 Januari 2014
- Tranggono, S., Sutardi, Haryadi, Suparno, A., Murdiyati, S., Sudarmadji, K., Rahayu., Naruki, M., dan Astuti. 1990. Bahan Tambahan Makanan (Food Additive) Pusat antar universitas pangan dan gizi. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Triyati, E., 1985, *Spektrofotometer ultra violet dan sinar tampak serta aplikasinya dalam Oseanologi, Oseana*, volume X, nomer 1 : 38-47 1985.
- Tursiana ED, 2013. Fraksinasi dan identifikasi senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L) secara kolom kromatografi [Tesis]. Surabaya : Universitas Katolik Widya Mandala.
- Uppu, R.M., A.N. Murthy, W.A. Pryor, N.L. Parinandi. 2010. Free Radicals and Antioxidant Protocols. 2 nd Edition. Humana Press, New York, USA.
- Voight R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi ke-5. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Hlm 4-10, 560-564, 568, 570.
- Wagner, H. and Bladt, S. 1996. Plant Drug Analysis. Springer, German.
- White, P.J. and Y. Xing. (1954). Antioxidants From Cereals And Legumes Dalam Foreidoon Shahididi : Natural Antioxidants, *Chemistry Health Effect And Applications*. AOCS Press, Champaign, illinois: 5-63.
- Widodo A. 2013. Uji Aktivitas Antioxidant Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Kloroform, dan Fraksi *n*-heksan Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)(skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi.

- Widyati E. 2006. *Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu*. Jurnal Gradien 2 (1): 116-112
- Widyowati R dan Rahman A. 2010. Kandungan kimia dan aktivitas antimikroba ekstrak *Garcinia celebica* I. Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Shigella Dysenteriae* dan *Candida Albicans*. Majalah Farmasi Airlangga 8(02)
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Hal 18-20.
- Xavier, G. A. J., Galiza da Silva, L. B., Rubem da Silva, D., Peixoto, R. D. M., Lino, G. C., dan Do Mota, R. A. 2008. *Dermatophytosis Caused by Microsporum canis and Microsporum gypseum in Free Living Bradypus variegatus* (Schiz, 1825) in the State of Pernambuco Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* (2008) 39: 508-510.
- Yen, G.H. and C.L. Hsieh. 2000. *Reactive Oxygen Species Scavenging Activity of Du-zhong*
- Yulastuti R. 2012. *Aktivitas antioksidan fraksi n-Heksan, etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun bayam (Amaranthus gangeticus Hort). Terhadap radikal bebas DPPH (1-1 diphenyl, 2-picrilhidrazil) [Skripsi]*. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Zhou, K., Su, L. & Yu, L. 2004. *Phytochemical and antioxidant properties in wheat bran*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 6108-6114

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Hasil Determinasi tanaman



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
 Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta 57102.Telp. (0271) 717417 ext 171

SURAT KETERANGAN

No: 021/A.E-I/LAB.BIO/VII/2018

Yang bertanda tangan di bawah ini atas nama Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta menerangkan bahwa:

Nama : Devi Agustin P.
 NIM : 20144160 A
 Program Studi : S1 Farmasi
 Fakultas : Farmasi
 Perguruan Tinggi : Universitas Setia Budi
 Keperluan : Skripsi

Menyatakan bahwa mahasiswa tersebut telah mendeterminasikan Tanaman **Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik.)** dengan sinonim ***Hibiscus manihot* L.** Pendeterminasian dilakukan pada:

Hari : Selasa
 Tanggal : 24 Juli 2018
 Tempat : Laboratorium Biologi

Demikian surat keterangan ini kami buat, harap dipergunakan dengan semestinya.

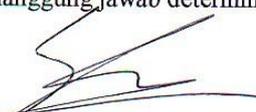
Surakarta, 24 Juli 2018

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Biologi,

Penanggung jawab determinasi,


Rina Astuti, M.Pd


Siti Kartika Sari, M.Pd.

NIK: 110.1653

Lampiran 2. Daun gedi merah



Daun gedi merah



Tanaman daun gedi merah



Daun basah



Daun kering



Ekstrak kental



Serbuk daun gedi merah



Fraksi etil asetat



Fraksi n-heksan



Fraksi air



Ekstraksi cair cair



DPPH



Larutan stok 1000 ppm fraksi n heksan etil asetat dan fraksi air



Rutin 50 ppm dan DPPH 80 ppm

Lampiran 3. Alat

sterling bidwell



Vacum evaporator



Timbangan



Chamber



Labu takar 100 ml



Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 4. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen
6300	1200	19,05

Perhitungan rendemen :

$$\% \text{ rendemen kering} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,2}{6,3} \times 100\%$$

$$= 19,05\%$$

Lampiran 5. Hasil penetapan kadar air daun gedi merah

Berat awal (gram)	Volume akhir (ml)	Kadar air (%)
20	1,8	9
20	1,9	9,5
20	1,8	9
Rata-rata		9,16±0,289

Rumus perhitungan kadar air (%) :

$$\begin{aligned} \text{Kadar air sampel 1} &= \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,8}{20} \times 100\% \\ &= 9\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air sampel 2} &= \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,9}{20} \times 100\% \\ &= 9,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air sampel 3} &= \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,8}{20} \times 100\% \\ &= 9\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air serbuk daun gedi merah} &= \frac{(9\%+9,5\%+9\%)}{3} \\ &= 9,16\% \end{aligned}$$

Hasil kadar air serbuk daun gedi merah memenuhi persyaratan yang ditentukan yaitu kecil dari 10% (< 10%).

Lampiran 6. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun gedi merah

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	55,909	11,1

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{55,909}{500} \times 100\% \\ &= 11,1 \%\end{aligned}$$

Hasil rendemen ekstrak daun gedi merah yang diperoleh sebesar 11,1 %

Lampiran 7. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air daun gedi merah

Hasil fraksinasi ekstrak daun gedi merah

Bobot ekstrak (gram)	Pelarut	Bobot fraksi	Rendemen (%b/b)
30	n- heksana	1,238	4,13
	Etil asetat	2,373	7,91
	Air	12,27	40,9

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen fraksi n-heksan} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,238}{30} \times 100\% \\
 &= 4,13\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,373}{30} \times 100\% \\
 &= 7,91\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen fraksi air} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\
 &= \frac{12,27}{30} \times 100\% \\
 &= 40,9\%
 \end{aligned}$$

Dari penelitian yang telah dilakukan dari empat kali replikasi dimana satu kali fraksinasi menggunakan ekstrak sebesar 7,5 gr didapatkan hasil rendemen untuk fraksi n heksan sebesar 4,13%, fraksi etil asetat sebesar 7,19% dan fraksi air sebesar 40,9%

Lampiran 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan serbuk daun gedi merah

Identifikasi	Serbuk	Ekstrak
Tanin		
Alkaloid		
Flavonoid		

Identifikasi	Serbuk	Ekstrak
Saponin		
Antosianin		
Antrakuinon		

Lampiran 9. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi daun geddi merah

Identifikasi	Fraksi n heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Tanin			
Alkaloid			
Flavonoid			

Identifikasi	Fraksi n heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Saponin			
Antosianin			
Antrakuinon			

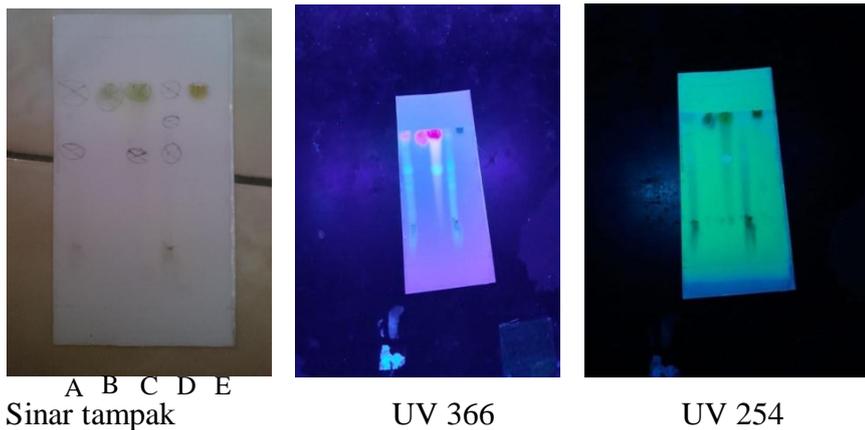
Lampiran 10. Hasil identifikasi KLT

1. Identifikasi flavonoid

Fase diam : Silika Gel 60 F₂₅₄

Fase gerak : Butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)

Semprot : Sitoborat



Ket:

- A : Ekstrak
 B : Fraksi n-heksan
 C : Fraksi etil asetat
 : Fraksi air
 E : Rutin

No	Sampel	X (cm)	Y (cm)	Rf	hRf
1	A1	5,2	6,5	0,8	80
	A2	3,8	6,5	0,58	58
2	B	5,1	6,5	0,78	78
	C1	5,2	6,5	0,8	80
3	C2	3,6	6,5	0,55	55
	D1	5,2	6,5	0,8	80
	D2	4,5	6,5	0,69	69
4	D3	3,2	6,5	0,49	49
	E	5,2	6,5	0,8	80

Contoh perhitungan Rf dan hRf

$$\text{Ekstrak} \quad Rf = \frac{x}{y} = \frac{5,2}{6,5} = 0,8$$

$$hRf = Rf \times 100 = 0,8 \times 100 = 80$$

2. Identifikasi tanin

Fase diam : Silika Gel 60 F₂₅₄
 Fase gerak : Kloroform: etil asetat: asam formiat (0,5:9:0,5)
 Semprot : FeCl₃



Sinar tampak

UV-366

UV 254

Ket:

A : Ekstrak
 B : Fraksi n-heksan
 C : Fraksi etil asetat
 D : Fraksi air
 E : Rutin

No	Sampel	X (cm)	Y (cm)	Rf	hRf
1	A1	5,4	6,4	0,84	84
	A2	4,8	6,4	0,75	75
2	B	5,6	6,4	0,87	87
3	C	5,45	6,4	0,85	85
4	D	5,5	6,4	0,86	86
5	E	5,6	6,4	0,87	87

Contoh perhitungan Rf dan hRf

$$\text{Fraksi n heksan} \quad Rf = \frac{x}{y} = \frac{5,4}{6,4} = 0,84$$

$$hRf = Rf \times 100 = 0,84 \times 100 = 84$$

Lampiran 11. Radikal bebas DPPH

Penimbangan DPPH

$$80 \text{ ppm} = \frac{80 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{8 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan DPPH konsentrasi 80 ppm maka ditimbang DPPH sebanyak 8 mg.

Pembuatan larutan DPPH

DPPH yang telah ditimbang menggunakan neraca elektrik sebanyak 8 mg, dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml yang telah ditutupi dengan aluminium foil.

Lampiran 12. Ekstrak etanol daun gedi merah

Penimbangan ekstrak kental

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg/L} = 1 \text{ mg/ml} \text{ sehingga } 1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan induk ekstrak konsentrasi 1000 ppm maka ditimbang ekstrak kental sebanyak 100 mg.

Pembuatan larutan induk ekstrak

Ekstrak yang telah ditimbang menggunakan neraca elektrik sebanyak 100 mg, dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml.

Pembuatan seri konsentrasi

Larutan induk ekstrak 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm (Firdaus, 2018).

Konsentrasi (ppm)	Pengenceran (ml)	Volume yang dibuat (ml)
20	1	50
40	2	50
60	3	50
80	4	50
100	5	50

Contoh perhitungan pembuatan konsentrasi 20 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak 1000 ppm dipipet sebanyak 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, dan 5 ml kemudian masing-masing dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 50 ml.

Lampiran 13. Fraksi n heksan, etil asetat, dan air daun gedi merah

Penimbangan fraksi n heksan, etil asetat, dan air

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg/L} = 1 \text{ mg/ml} \text{ sehingga } 1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan induk fraksi konsentrasi 1000 ppm maka ditimbang fraksi n heksan, etil asetat dan air sebanyak 100 mg.

Pembuatan larutan induk fraksi

fraksi yang telah ditimbang menggunakan neraca elektrik sebanyak 100 mg, dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml.

Pembuatan seri konsentrasi

Larutan induk fraksi 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Pengenceran (ml)	Volume yang dibuat (ml)
20	0,2	10
40	0,4	10
60	0,6	10
80	0,8	10
100	1	10

Contoh perhitungan pembuatan konsentrasi 20 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml}$$

Larutan induk fraksi 1000 ppm dipipet sebanyak 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, dan 1 ml kemudian masing-masing dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 10 ml.

Lampiran 14. Perhitungan rutin

Penimbangan rutin

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Untuk membuat larutan induk rutin konsentrasi 50 ppm maka ditimbang rutin 5 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100ml.

Pembuatan larutan induk rutin

Rutin yang telah ditimbang menggunakan neraca elektrik sebanyak 5 mg, dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 100 ml.

Pembuatan seri konsentrasi

Larutan induk rutin 50 ppm dibuat seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm.

Konsentrasi (ppm)	Pengenceran (ml)	Volume yang dibuat (ml)
2	0,4	10
4	0,8	10
6	1,2	10
8	1,6	10
10	2	10

Contoh perhitungan pembuatan konsentrasi 2 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$50 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ ml}$$

Larutan induk rutin 50 ppm dipipet sebanyak 0,4 ml, 0,8 ml, 1,2 ml, 1,6 ml, dan 2 ml kemudian masing-masing dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu takar 10 ml.

Lampiran 15. Perhitungan IC₅₀ ekstrak etanol daun gedi merah.

Perhitungan IC₅₀ ekstrak etanol daun gedi merah

Konsentrasi	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,63	18,61	
40	0,57	26,35	
60	0,50	35,41	116,66
80	0,47	39,27	
100	0,42	45,74	

Absorbansi blanko 0,774

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,774 - 0,63}{0,774} \times 100\%$$

$$= 18,61\%$$

Perhitungan IC₅₀ :

Hasil regresi linier

$$a = 10,919$$

$$b = 0,335$$

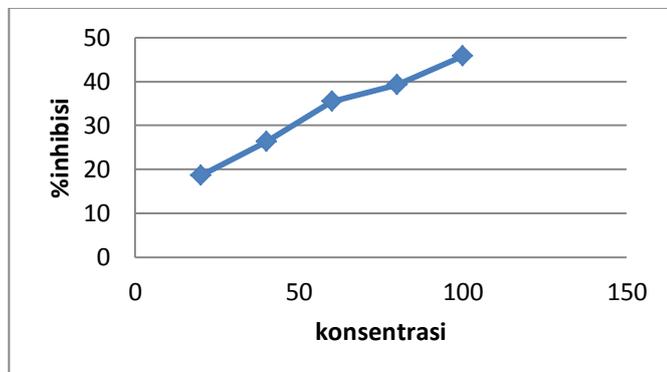
$$r = 0,957$$

$$y = a + b \cdot x \quad (x = \text{IC}_{50})$$

$$50 = 10,919 + 0,335 \cdot x$$

$$x = \frac{50 - 10,919}{0,335}$$

$$x = 116,66 \text{ ppm}$$



Lampiran 16. Perhitungan IC₅₀ fraksi n-heksan, etil asetat, dan fraksi air

Perhitungan IC₅₀ fraksi n-Heksan

Konsentrasi	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,66	14,72	
40	0,62	19,90	
60	0,59	23,77	211,778
80	0,58	25,06	
100	0,54	30,23	

Absorbansi blanko 0,774

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi} &= \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,774 - 0,66}{0,774} \times 100\% \\ &= 14,72\% \end{aligned}$$

Perhitungan IC₅₀ :

Hasil regresi linier

$$a = 11,88$$

$$b = 0,181$$

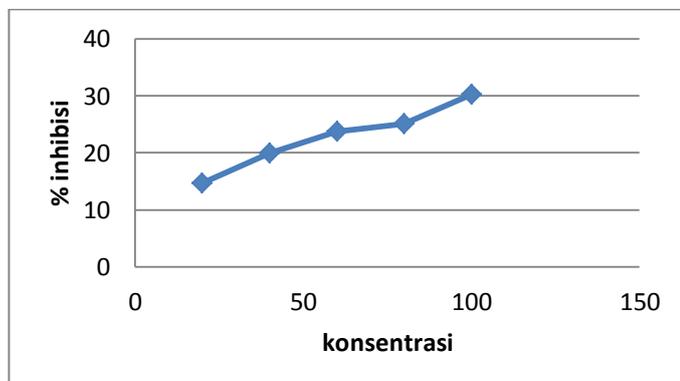
$$r = 0,984$$

$$y = a + b \cdot x \quad (x = \text{IC}_{50})$$

$$50 = 11,88 + 0,181 \cdot x$$

$$x = \frac{50 - 11,88}{0,181}$$

$$x = 211,78 \text{ ppm}$$



Perhitungan IC₅₀ fraksi etil asetat

Konsentrasi	Absorbansi	%inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,62	19,90	
40	0,54	30,23	
60	0,47	40,86	84,19
80	0,40	48,32	
100	0,34	56,07	

Absorbansi blanko 0,774

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\begin{aligned} \%inhibisi &= \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,774 - 0,62}{0,774} \times 100\% \\ &= 19,90\% \end{aligned}$$

Perhitungan IC₅₀ :

Hasil regresi linier

$$a = 11,947$$

$$b = 0,452$$

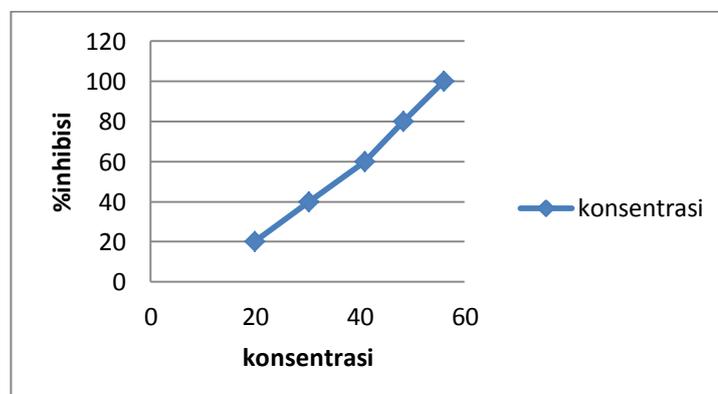
$$r = 0,996$$

$$y = a + b \cdot x \quad (x = \text{IC}_{50})$$

$$50 = 11,947 + 0,452 \cdot x$$

$$x = \frac{50 - 11,947}{0,452}$$

$$x = 84,19 \text{ ppm}$$



Perhitungan IC₅₀ fraksi air

Konsentrasi	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
20	0,61	21,18	
40	0,57	26,36	
60	0,50	35,40	95,73
80	0,42	45,74	
100	0,38	50,90	

Absorbansi blanko 0,774

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi} &= \frac{\text{absorbansi blangko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,774 - 0,61}{0,774} \times 100\% \\ &= 21,18\% \end{aligned}$$

Perhitungan IC₅₀ :

Hasil regresi linier

$$a = 12,27$$

$$b = 0,394$$

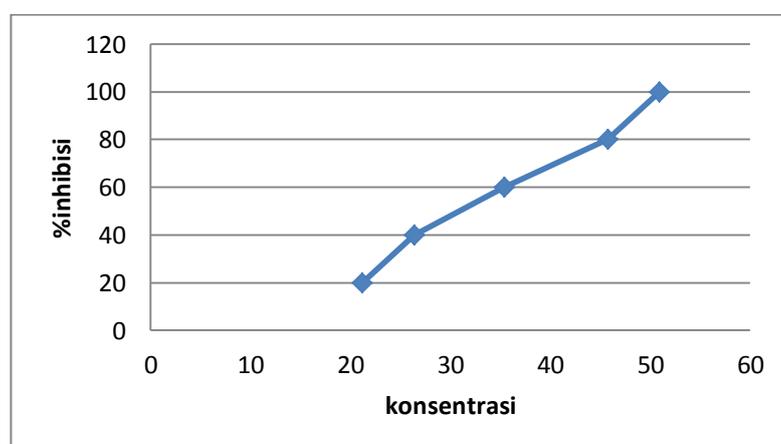
$$r = 0,994$$

$$y = a + b \cdot x \quad (x = \text{IC}_{50})$$

$$50 = 12,27 + 0,394 \cdot x$$

$$x = \frac{50 - 12,27}{0,394}$$

$$x = 95,73 \text{ ppm}$$



Lampiran 17. Perhitungan IC₅₀ rutin

Konsentrasi	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
2	0,52	32,82	
4	0,50	35,40	
6	0,45	41,86	9,52
8	0,41	47,03	
10	0,38	50,90	

Absorbansi blanko 0,774

Contoh perhitungan % inhibisi :

$$\begin{aligned}
 \% \text{inhibisi} &= \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,774 - 0,52}{0,774} \times 100\% \\
 &= 32,2\%
 \end{aligned}$$

Perhitungan IC₅₀ :

Hasil regresi linier replikasi 1

$$a = 27,265$$

$$b = 2,389$$

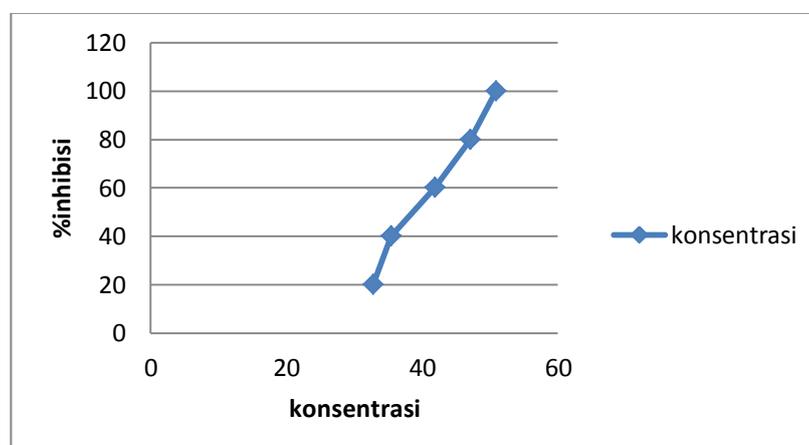
$$r = 0,993$$

$$y = a + b \cdot x \quad (x = \text{IC}_{50})$$

$$50 = 27,265 + 0,2389 \cdot x$$

$$x = \frac{50 - 27,265}{2,389}$$

$$x = 9,52 \text{ ppm}$$



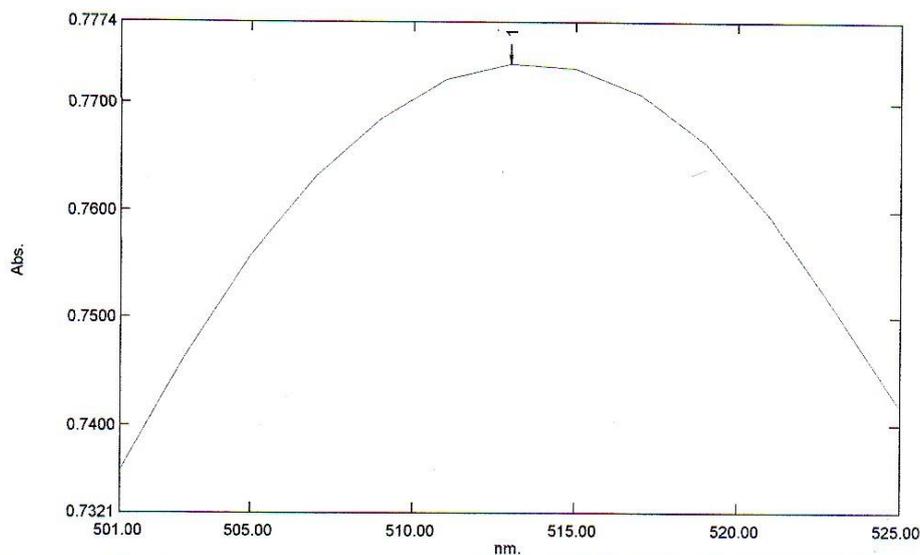
Lampiran 18. Panjang gelombang maksimum

Wavelength	Abs
513	0,7736

Spectrum Peak Pick Report

07/14/2018 07:54:27 AM

Data Set: jpg gel maks devi - RawData



[Measurement Properties]
 Wavelength Range (nm.): 500.00 to 525.00
 Scan Speed: Medium
 Sampling Interval: 2.0
 Auto Sampling Interval: Disabled
 Scan Mode: Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1		513.00	0.7736	

[Instrument Properties]
 Instrument Type: UV-1800 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 1.0 nm
 Light Source Change Wavelength: 340.0 nm
 S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]
 Attachment: None

[Operation]
 Threshold: 0.0010000
 Points: 4
 InterPolate: Disabled
 Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

Lampiran 19. Data Operating time**Operating time rutin**

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,2243
1	0,2242
2	0,2255
3	0,2273
4	0,2286
5	0,2300
6	0,2307
7	0,2318
8	0,2325
9	0,2336
10	0,2343
11	0,2354
12	0,2345
13	0,2366
14	0,2381
15	0,2385
16	0,2396
17	0,2412
18	0,2423
19	0,2426
20	0,2435
21	0,2436
22	0,2452
23	0,2458
24	0,2464
25	0,2464
26	0,2492
27	0,2492
28	0,2492
29	0,2492
30	0,2492