

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK HERBA KIAPU
(*Pistia stratiotes* L) TERHADAP RADIKAL DPPH
(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**



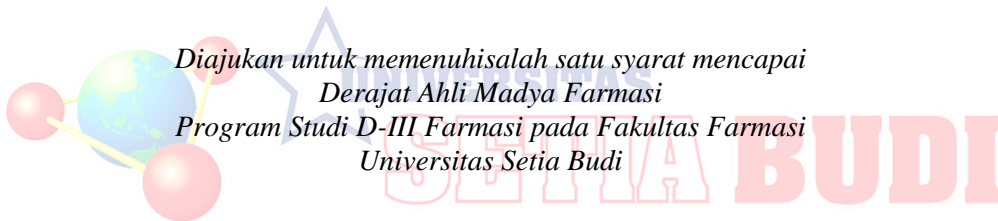
Oleh :

**Yohana Kristi Hendra Nata
17141064B**

**PROGRAM STUDI DIII-FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK HERBA KIAPU
(*Pistia stratiotes* L) TERHADAP RADIKAL DPPH
(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**

KARYA TULIS ILMIAH



Oleh :

**Yohana Kristi Hendra Nata
17141064B**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI DIII-FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK HERBA KIAPU
(*Pistia stratiotes* L) TERHADAP RADIKAL DPPH
(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**

Oleh

Yohana Kristi Hendra Nata

17141064B

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Karya Tulis Ilmiah

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

Pada Tanggal : 19 Juni 2017

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

Pembimbing



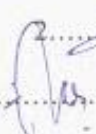


Ghani Nurfiana F. S., M.Farm., Apt



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

Penguji :

1. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt 1.....
2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc 2.....
3. Ghani Nurfiana F.S., M.Farm., Apt 3.....

PERSEMBAHAN

“ Karena MASA DEPAN sungguh ADA dan harapanmu tidak akan hilang” (Amsal 23:18)

“ Unless life is lived for others, it is not worthwhile” (Mother Teresa)

Mintalah kepada Tuhan “CINTA KASIH” dan “BELAS KASIH”
Karena cinta dan belas kasih menumbuhkan “KEDAMAIAN” dan
“KEDAMAIAN” adalah KEKAYAAN SEJATI

Ucap Syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas selesainya Karya Tulis Ilmiah ini, dengan hormat dan kerendahan hati penulis persembahkan kepada :

- Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat dan perlindunganNya.
- Orang tuaku tercinta sebagai wujud rasa hormat , bakti, dan terimakasih.
- Teman-temanku yang telah membantu dan mendukungku.
- Agama, Almamater, Bangsa, dan Negara.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa karya tulis ilmiah ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum, apabila karya tulis ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain.

Surakarta,



Yohana Kristi Hendra Nata

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul: **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK HERBA KIAPU (*Pistia stratiotes* L) TERHADAP RADIKAL DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil)”**.

Karya tulis ilmiah ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Diploma Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta, dengan dilaksanakannya karya tulis ilmiah ini maka diharapkan dapat memperoleh wawasan baru tentang segala sesuatu yang berkaitan dengan kefarmasian bagi penulis maupun pembaca.

Penulis menyadari bahwa penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak baik dukungan moral maupun material, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada :

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. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt, selaku Ketua Program Studi D-III Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Ghani Nurfiana F.S., M.Farm., Apt., selaku dosen pembimbing yang telah berkenan memberikan bimbingan, nasehat dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

5. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt dan Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saranya untuk perbaikan sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
6. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta yang banyak membantu kelancaran dalam pelaksanaan karya tulis ilmiah.
7. Kedua orang tuaku tercinta terimakasih untuk nasehat dan doa yang selalu diberikan.
8. Terima kasih teman-teman D-III Farmasi angkatan 2014 atas dukungan dan bantuan kalian selama proses penelitian dan penyusunan karya tulis.
9. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu terimakasih untuk dukungan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis untuk perbaikan penulisan karya ilmiah ini. Penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Surakarta,

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Kiapu	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Nama daerah	5
3. Morfologi tanaman	6
4. Manfaat tanaman kiapu	8
5. Kandungan kimia tanaman kiapu	8
5.1. Flavonoid.....	8
5.2. Saponin	10
5.3. Tannin.....	11
B. Penyarian	11
1. Definisi	11
2. Ekstrak	11
3. Metode maserasi	12

4. Pelarut.....	12
C. Radikal Bebas	13
D. Antioksidan	15
1. Definisi	15
2. Jenis antioksidan.....	16
2.1. Antioksidan primer	16
2.2. Antioksidan sekunder	16
2.3. Antioksidan tersier	16
3. Rutin	17
4. Uji aktivitas antioksidan	18
4.1. Pengujian penangkap radikal.....	18
4.2. Pengujian β -karoten-linoleat.....	19
4.3. Pengujian linoleate-tiosianat	19
4.4. Pengujian asam tiobarbiturat	19
E. Spektrofotometri UV-Vis.....	20
1. Definisi	20
2. Instrumentasi	20
2.1. Sumber-sumber lampu	20
2.2. Monokromator	20
2.3. Optik.....	20
3. Aspek kualitatif dan kuantitatif	21
3.1. Aspek kualitatif	21
3.2. Aspek kuantitatif	21
F. Landasan teori	21
G. Hipotesis.....	23

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel	24
B. Variabel Penelitian	24
1. Identifikasi variabel utama	24
2. Klasifikasi variabel utama	24
3. Definisi operasional variabel utama	25
C. Alat dan Bahan	25
D. Jalannya Penelitian	26
1. Determinasi tanaman	26
2. Persiapan bahan	26
3. Pembuatan serbuk.....	26
4. Penetapan kadar kelembaban	26
5. Pembuatan ekstrak etanol	27
6. Identifikasi kandungan kimia	27
6.1. Identifikasi fenolik	27
6.2. Identifikasi tannin.....	27
6.3. Identifikasi flavonoid	27
6.4. Identifikasi steroid.....	28
6.5. Identifikasi saponin	28
7. Pembuatan larutan DPPH.....	28

8. Penetapan panjang gelombang maksimal.....	28
9. Penetapan operating time	28
10. Uji aktivitas Antioksidan.....	29
E. Analisa data	29
F. Skema jalanya penelitian	30
BAB IV HASIL PENELITIAN dan PEMBAHASAN	
A. Determinasi tanaman	31
B. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk	31
1. Persiapan bahan	31
2. Pembuatan serbuk.....	32
3. Penetapan kadar kelembaban	32
C. Pembuatan ekstrak.....	33
D. Skrining fitokimia	33
E. Uji aktifitas antioksidan	34
1. Penetapan panjang gelombang.....	34
2. Penetapan <i>operating time</i>	35
3. Uji aktifitas antioksidan	36
BAB V KESIMPULAN dan SARAN	
A. Kesimpulan.....	39
B. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman kiapu.....	43
2. Kurva serapan DPPH.....	35
3. Kurva penetapan <i>operating time</i>	35
4. Kurva perbandingan ekstrak tanaman dengan rutin	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kadar kelembaban serbuk.....	32
2. Skrining fitokimia	34
3. Hubungan konsentrasi ekstrak etanolik tanaman kiapu dan pembanding rutin terhadap peredaman DPPH.	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1.	Ta
naman kiapu	43
2. Determinasi tanaman	44
3. Foto alat dan bahan	45
4. Perhitungan rendemen,ekstrak tanaman kiapu.....	46
5. Perhitungan kadar lembab tanaman kiapu	46
6. Perhitungan pembuatan larutan DPPH	49
7. Tabel penentuan panjang gelombang maksimum.....	50
8. Tabel penentuan <i>operating time</i>	51
9. Perhitungan seri konsentrasi ekstrak dan rutin	52
10. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC_{50} ekstrak	55
11. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC_{50} rutin	57
12. Foto skrining fitokimia	59

INTISARI

NATA, Y.K.H., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK HERBA KIAPU (*Pistia stratiotes* L) TERHADAP RADIKAL DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil), KARYA TULIS ILMIAH, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tanaman Kiapu (*Pistia stratiotes* L) mempunyai kandungan senyawa flavonoid, steroid, fenol, saponin, dan tannin yang berpotensi sebagai penangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanolik herba kayu apu terhadap radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan parameter IC_{50} .

Serbuk tanaman kiapu dimaserasi dengan etanol 70%. Ekstrak herba kiapu diuji aktivitas antioksidanya dengan membagi ekstrak ke dalam 5 seri konsentrasi 250 ppm, 200 ppm, 150 ppm, 100 ppm dan 50 ppm dan standar rutin sebesar 10 ppm, 5 ppm, 2.5 ppm, 1 ppm, 0.5 ppm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak herba kiapu memiliki nilai IC_{50} sebesar 85.41 $\mu\text{g/mL}$ dengan perbandingan rutin 1.170 $\mu\text{g/mL}$. Kesimpulan yang diperoleh adalah herba kiapu (*Pistia stratiotes* L) termasuk kedalam tingkat antioksidan aktif (IC_{50} 50-100 ppm).

Kata kunci : Tanaman kiapu, Antioksidan, DPPH

ABSTRACT

NATA, Y.K.H., 2017, TEST OF ANTIOXIDE ETANOLIC HERB ACTIVITY (*Pistia stratiotes* L) ON RADICAL DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhdrazil), SCIENTIFIC WRITING, PHARMACEUTICAL FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Plant kiapu (*Pistia stratiotes* L) has a compound of flavonoids, steroids, phenols, saponins, and tannins that have the potential as an antidote to free radicals. This study aims to determine the antioxidant activity of ethanolic extract of kiapu herb on DPPH radical (1,1-diphenyl-2-picrylhdrazil) with IC₅₀ parameter.

The power of kiapu plants is macerated with 70% ethanol. The extract kiapu herb was tested for its antioxidant activity by dividing the extract into 5 series concentrations of 250 ppm, 200 ppm, 150 ppm, 100 ppm and 50 ppm and the routine standard of 10 ppm, 5 ppm, 2.5 ppm, 1 ppm, 0.5 ppm.

The results showed that kiapu herb extract had IC₅₀ value of 85.41 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with routine ratio 1.170 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The conclusion obtained is the kiapu herb (*Pistia stratiotes* L) included into the active antioxidant level (IC₅₀ 50-100 ppm).

Keywords : Kiapu plant, Antioxidant, DPPH

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia kaya akan berbagai keanekaragaman hayati yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat atau bahan baku obat. Survei tentang obat di Amerika Serikat yang diakui oleh *Food and Drug Administration* pada periode 1983-1994 menunjukkan bahwa 157 dari 520 (30%) jenis obat berasal dari bahan alam atau turunannya di mana 61% senyawa antikanker yang diakui juga berasal dari bahan alam atau turunannya (Cordell, 2000). Tanaman sebagai bahan obat sangat berpotensi oleh karena itu perlu adanya eksplorasi aktivitas tanaman obat sehingga memperkaya informasi tanaman obat (Patria W & Soegihardjo, 2013).

Indonesia mempunyai berbagai jenis tumbuhan, salah satunya merupakan jenis tumbuhan air yang banyak berkembang di air laut maupun tawar. Air merupakan hal terpenting bagi kehidupan manusia, hewan dan tumbuhan maupun ekosistem didalamnya. Tumbuhan air akan meningkatkan kadar oksigen, menyediakan makanan, melindungi serta tempat bersarang untuk ikan dan insekta, serta mencegah erosi dan kekeruhan air.

Tumbuhan air juga berfungsi sebagai agen rehabilitasi perairan, dan ternyata tumbuhan akuatik memiliki potensi ekonomi lain yang belum banyak digali yaitu bidang pangan dan kesehatan. Potensi ini berkaitan dengan pemanfaatan komponen yang terkandung dalam tumbuhan itu sendiri. Kayu apu merupakan jenis tanaman air yang termasuk gulma atau tanaman pengganggu

karena sangat cepat tumbuh dan mempunyai daya adaptasi terhadap lingkungan baru. Tanaman akan sulit dikendalikan sehingga menjadi gangguan kronis bagi perairan dan akan dibuang begitu saja (Kurniawan *et al*, 2010).

Pada umumnya tumbuhan akan menyerap unsur-unsur hara yang larut dalam air dan tanah melalui akar-akarnya. Semua tumbuhan mempunyai kemampuan menyerap yang memungkinkan pergerakan ion menembus membran sel mulai dari unsur yang berlimpah sampai dengan unsur yang sangat kecil dibutuhkan tanaman dan ternyata dapat diakumulasikan oleh tanaman (Wolverton & Mcknown, 1973).

Tanaman kiapu mengandung senyawa flavonoid, steroid, glikosida antrakuinon (Ahad *et al*, 2011), fenol, antosianin, saponin, karbohidrat dan tannin (Tulika & Agarwal, 2014) yang berpotensi dikembangkan dibidang kesehatan terutama senyawa flavonoidnya. Akar kiapu pada penelitian Kurniawan (2014) mempunyai nilai IC_{50} sebesar 433,06 $\mu\text{g/ml}$.

Beberapa ribu senyawa fenol alam telah diketahui strukturnya. Senyawa flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik terbesar dan tersebar disemua tumbuhan sebagai campuran (Handayani, 2013). Flavonoid dilaporkan memiliki beberapa bioaktivitas seperti antiinflamasi, antibakteri, analgesik, antioksidan, dan antikarsinogenik (Ahad *et al*, 2011). Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogenya atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Redha, 2010). Antosianin, fenol, saponin, tannin diketahui mempunyai efek sebagai antimikoba, antioksidan, antivirus, menghambat pertumbuhan tumor dan antikarsinogenik (Harbone, 1987).

Pada tubuh manusia oksigen dibawa oleh darah untuk proses metabolisme di dalam tubuh. Oksigen dapat membantu sel mengubah nutrisi menjadi energi, namun oksigen ini dapat teroksidasi sehingga terbentuk molekul yang tidak stabil karena metabolisme di dalam tubuh maupun faktor dari luar tubuh seperti merokok, polusi, dan lain sebagainya. Radikal bebas menimbulkan banyak penyakit seperti kanker dan penyakit kardiovaskular serta dapat menyebabkan oksidatif yang menyerang protein, DNA, dan lipid (Jacobi & Burri, 1996).

Senyawa – senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan efek dari radikal bebas disebut antioksidan. Senyawa antioksidan mampu mencegah kerusakan oksidatif melalui mekanismenya. Senyawa flavonoid, tannin, saponin, steroid, antosianin, karbohidrat, glikosida antrakuinon yang ada dalam tanaman kiapu (*Pistia stratiotes* L) terutama flavonoid, saponin dan tannin merupakan senyawa yang potensial digunakan sebagai antioksidan. Karakteristik utama antioksidan adalah kemampuan untuk menangkap radikal bebas. Komponen antioksidan yang terdapat pada tanaman seperti asam fenolat, polifenol, dan flavanoid akan menangkap radikal bebas yang terkandung dalam sistem biologis seperti peroksida, hidroperoksida atau lipid peroksil, dan juga menghambat mekanisme oksidatif (Prakash, 2001).

Besarnya dampak radikal bebas terhadap kesehatan mempengaruhi kebutuhan akan antioksidan, maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanolik herba kiapu untuk mengeksplorasi kemampuan aktivitas antioksidan tumbuhan air yang berlimpah yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} menggunakan metode radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang diuraikan, maka dapat dirumuskan masalah antara lain:

1. Apakah ekstrak etanolik tanaman kiapu memiliki aktivitas sebagai antioksidan?
2. Berapa besar potensi aktifitas antioksidan ekstrak etanolik tanaman kiapu sebagai peredam radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} ?
3. Golongan senyawa apakah yang terkandung dalam ekstrak etanolik tanaman kiapu?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktifitas antioksidan dari ekstrak etanolik tanaman kiapu.
2. Mengetahui besarnya potensi aktifitas antioksidan ekstrak etanolik tanaman kiapu sebagai peredam radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} .
3. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanolik tanaman kiapu.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan dalam mengeksplorasi aktivitas tanaman obat sehingga memperkaya informasi tanaman obat.
2. Memberikan ilmu pengetahuan bagi peneliti lain sehingga penelitian dapat dikembangkan.
3. Menambah pengetahuan tanaman obat di lingkungan sekitar bagi penulis .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kiapu

1. Sistematika tanaman kiapu

Tanaman kiapu (*Pistia stratiotes* L) memiliki sistematika sebagai berikut (Rijal, 2014) :

Regnum	: Plantae
Sub Regnum	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Subclass	: Arecidae
Order	: Arales
Family	: Araceae
Genus	: Pistia
Species	: <i>Pistia stratiotes</i> L

2. Nama daerah tanaman kiapu

Tumbuhan ini dikenal dengan *water lettuce* dalam bahasa Inggris yang berarti kubis air atau selada air. Merupakan tumbuhan yang berasal dari Afrika atau Amerika selatan yang tumbuh secara alami atau bisa juga dibawa oleh manusia (Rijal, 2014). Nama latin tanaman ini adalah *Pistia stratiotes* L. Nama sinonimnya sangat banyak seperti *Apiospermum obcordatum* (Schleid.)

Klotzsch, *Limnonesis commutata* (Schleid.) Klotzsch, *Pistia aegyptiaca* Schleid., *Pistia amazonica* C.Presl, *Pistia crispata* Blume, *Pistia horkeliana* Miq., *Pistia obcordata* Schleid., *Pistia weigeltiana* C.Presl, hingga *Zala asiatica* Lou. Tanaman kayu apu dalam bahasa Inggris dinamai *water cabbage*, *water lettuce*, *Nile cabbage*, atau *shellflower*. Sedangkan di Indonesia memiliki beberapa sebutan mulai dari apu-apu, kapu-kapu, kiapu, ki apung, kayu apu, atau kayu apung (Ramey, 2001).

3. Morfologi tanaman kiapu

Kiapu adalah gulma air yang menggenang di permukaan, deskripsi tanaman dengan habitus herba, mengapung di permukaan air dan memiliki tinggi sekitar 5-10 cm lebar 2-6 cm dengan pertulangan sejajar (monokotil) kontras dengan warna hijau kebiruan (Ramey, 2001). Pertulangan daun sejajar, dimana tulang daun tipis dan terselubung, daun berwarna hijau kadang kebiruan, bila sudah tua agak berwarna kuning, tangkai daun sangat pendek hampir tidak ada. Merupakan suatu tumbuhan tetap hijau monocotyledon dengan daun tebal, yang lembut yang membentuk suatu pahatan seperti bentuk mawar.

Daun-daunnya dapat mencapai 14 cm dan tidak punya batang. Rambut-rambut akarnya membentuk suatu struktur berbentuk seperti keranjang dan dikelilingi gelembung udara, sehingga meningkatkan daya apung tumbuhan itu. Bunga tersembunyi pada pertengahan tumbuhan di antara daun-daun. Bunga berada di tengah roset dan tumbuh berwarna putih namun tidak begitu jelas, bunga bertipe bunga tongkol dan terletak di ketiak daun, berumah satu, panjang bunga kurang lebih 1 cm, memiliki rambut dan dilindungi oleh seludang, akar panjang

berwarna putih, yang menggantung di bawah roset yang mengambang bebas di sepanjang saluran air serta memiliki stolon.

Tanaman kiapu mempunyai banyak akar tambahan yang penuh dengan bulu-bulu akar yang halus, panjang, dan lebat. Penyebaran hidrophyta secara luas pada daerah beriklim tropis. Tanaman ini juga banyak terdapat di semenanjung Florida menuju ke barat Texas, didokumentasi sepanjang danau, aliran sungai, pantai, rawa yang dalam/dangkal dan menyebar hingga wilayah beriklim tropis dan subtropis, termasuk Asia (Ramey, 2001).

Tumbuhan herba dengan stoloniferus biasa ditemukan di genangan air kolam dan sungai di India pada ketinggian 1000 meter (Rijal, 2014). Tumbuhan ini cenderung untuk memperluas dan melacak serta membentuk koloni besar yang dapat menutupi seluruh permukaan yang tersedia bagi mereka. Tumbuhan ini lebih suka di tempat yang cerah dan mendapat cahaya matahari secara bebas namun dapat hidup di tempat yang teduh tetapi terkena cahaya matahari secara parsial (Ramey, 2001)

Distribusi yang aslinya tidak pasti, mungkin pada daerah pantropical. Pertama kali diambil dari sungai Nil, dekat danau Victoria di Afrika. Sekarang secara alami sudah ditemui di hampir semua daerah subtropis dan tropis. Tumbuhan ini dapat juga mengalami reproduksi vegetatif. *Pistia stratiotes* L dapat diperjual belikan ke tempat penjualan di pantai. Tanaman kiapu berasal dari air dengan herbisida pun bisa dimanfaatkan. Tumbuhan ini mengapung bebas di perairan kecuali menempel pada lumpur. Tumbuhnya di genangan air yang tenang atau yang mengalir dengan lambat (Rijal, 2014).

4. Manfaat tanaman kiapu

Bagian daunnya sering digunakan untuk pengobatan, di Gambia tumbuhan ini digunakan sebagai Anodine untuk cuci mata (Rijal, 2014). Tanaman Kiapu memiliki kemampuan mengakumulasi pencemaran organik (Wolverton & Mcknown, 1973). Tanaman Kayu apu (*Pistia stratiotes* L) di Indonesia lebih sering digunakan dalam akuarium tropis untuk melindungi ikan kecil karena kemampuannya menyerap racun dalam air (Kurniawan *et al*, 2010). Tanaman kiapu digunakan sebagai pakan ternak (Rijal, 2014).

Tanaman ini dipercaya mempunyai khasiat sebagai pelembut dan penyejuk, obat disentri, haematurie, antiseptik, insektisida dan obat asma sebagai obat herbal, dalam industri tanaman ini digunakan sebagai penyerap unsur-unsur toksis pada air limbah. Tanaman kiapu (*Pistia stratiotes* L) mempunyai keunggulan seperti daya berkecambah yang tinggi, pertumbuhan cepat, tingkat absorpsi atau penyerapan unsur hara dan air yang besar, mudah ditemukan, dan daya adaptasi yang tinggi terhadap iklim sehingga digolongkan kedalam organisme pengganggu tanaman (Rijal, 2014).

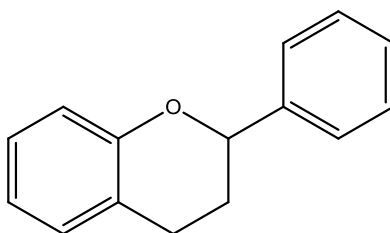
5. Kandungan kimia tanaman kiapu

Tanaman kiapu mengandung senyawa flavonoid, steroid, glikosida antrakuinon (Ahad *et al.*, 2011), fenol, antosianin, saponin, karbohidrat dan tannin (Tulika & Agarwal, 2014).

5.1. Flavonoid. Istilah senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar, mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam

konfigurasi $C_6-C_3-C_6$ (Gambar 1) (Harborne, 1987). Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Handayani, 2013). Sistem penomoran untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya.

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).



Gambar 1. Kerangka $C_6-C_3-C_6$ Flavonoid

Flavonoid dibagi menjadi enam sub kelompok: flavon, flavonol, flavanol, flavanone, isoflavon dan antosianin, sesuai dengan keadaan oksidasi cincin C pusat. Variasi struktur di setiap sub kelompok sebagian disebabkan oleh tingkat dan pola hidroksilasi, metoksilasi, prenilasi, atau glikolasi (Dai & Mumper, 2010). Flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai sejumlah gugus hidroksil tidak tersulih atau gula sehingga larut dalam pelarut polar etanol, methanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida dan air. Flavonoid berkhasiat sebagai antioksidan, antimikroba, antivirus dan antijamur (Markham, 1988).

Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C₆-C₃ (fenil propana) yang bersumber dari asam sikimat (via fenilalanin) dan unit C₆ yang diturunkan dari jalur poliketida. Fragmen poliketida ini disusun dari tiga kelompok molekul malonil-KoA, yang bergabung dengan unit C₆-C₃ (sebagai KoA tioester) untuk membentuk unit awal triketida. Flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan terdiri atas unit-unit yang diturunkan dari asam sikimat dan jalur poliketida.

Unit awal triketida mengalami siklisasi oleh enzim kalkon sintase untuk membentuk gugus kalkon pada flavonoid kemudian terjadi siklisasi untuk menghasilkan cincin piranon yang mengandung inti flavon yang dapat memiliki ikatan C₂-C₃ teroksidasi (tak jenuh) untuk menghasilkan gugus flavon atau dihidroksilasi pada posisi C₃ cincin piranon untuk menghasilkan gugus flavanol pada flavonoid. Flavanol ini selanjutnya dioksidasi untuk menghasilkan antosianin yang memberikan warna biru terang pada bunga dan anggur merah gelap (Hertog *et al*, 1992).

5.2. Saponin. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan spesies tanaman berbeda, berperan sebagai bagian dari sistem pertahanan tanaman dan termasuk kedalam kelompok besar molekul pelindung tanaman yang disebut *phytoanticipins* atau *phytoprotectans*. Saponin larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Saponin diketahui mempunyai efek sebagai antimikroba, menghambat jamur, melindungi tanaman dari serangga, menurunkan kolesterol, antioksidan, antivirus, antikarsinogenik dan manipulator. Pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Harbone, 1987).

5.3. Tannin. Senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan, mempunyai rasa pahit dan kelat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit, yang bereaksi dengan dan menggumpalkan protein, atau berbagai senyawa organik lainnya termasuk asam amino dan alkaloid. Tannin merupakan senyawa amorf berwarna coklat kuning yang larut dalam pelarut organik polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzen dan kloroform. Beberapa tannin mempunyai aktifitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor, dan menghambat enzim serta dapat mendenaturasi protein (Harborne, 1987).

Senyawa tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan, senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsaan herbivora dan hama, serta pengaturan pertumbuhan. Tanin yang terkandung dalam buah muda menimbulkan rasa kelat (sepat), perubahan-perubahan yang terjadi pada senyawa tanin bersama berjalannya waktu berperan penting dalam proses pemasakan buah.

B. Penyarian

1. Definisi

Penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Faktor yang mempengaruhi penyarian adalah derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi (Depkes, 1986).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani dengan pelarut yang sesuai, pelarut yang biasa

digunakan adalah etanol, air, eter, atau campuran etanol dan air. Cairan penyari harus stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes, 1986).

3. Metode Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Zat aktif larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel (Depkes, 1986).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna. Proses maserasi dilakukan dengan perendaman 10 bagian serbuk dan 75 bagian penyari, ditutup dan didiamkan selama 5 hari terlindung dari cahaya dengan sesekali penggojokan setiap harinya, selanjutnya disaring dengan kain flannel dan ampas dibilas 2,5 bagian pelarut (Depkes, 1986).

4. Pelarut

Etanol banyak digunakan sebagai pelarut dalam berbagai bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia, misal: parfum, perasa, pewarna makanan dan obat- obatan. Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, flavonoid, steroid, dan klorofil.

Campuran antara etanol dan air digunakan untuk meningkatkan penyarian. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung bahan yang disari (Depkes, 1986).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol sangat efektif untuk menghasilkan bahan aktif dalam jumlah yang optimal, tidak menyebabkan pembengkakan membrane sel, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, selektif, pada konsentrasi di atas 20% dapat mencegah tumbuhnya kapang, tidak beracun dan absorbansinya baik (Arfiana, 2015).

C. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa yang keadaanya bebas dan mempunyai satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan (Fessenden & Fessenden, 1984). Radikal bebas bersifat tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul disekitarnya sehingga radika bebas bersifat toksik terhadap molekul biologi atau sel (Bintang, 2010).

Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin dan protein lain seperti enzim dalam tubuh (Droge, 2002). Radikal bebas memiliki reaktifitas sangat tinggi, hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang segera menarik atau menyerang elektron di sekelilingnya. Senyawa radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal.

Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas terdiri atas tiga tahap yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi adalah tahap awal pembentukan radikal bebas. Tahap kedua adalah propagasi yaitu perubahan suatu molekul

radikal bebas menjadi radikal bentuk lain (pembentukan radikal bebas baru). Antioksidan sangat besar peranannya pada manusia dalam mencegah terjadinya penyakit, yaitu dengan menekan kerusakan sel yang terjadi akibat serangan radikal bebas. Ciri utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya dalam meredam radikal bebas (Hertog *et al*, 1992).

Senyawa-senyawa yang tergabung dalam senyawa antioksidan akan menyerahkan satu atau lebih elektronnya pada radikal bebas sehingga menjadi bentuk yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan. Radikal bebas adalah suatu atom yang memiliki satu elektron tidak berpasangan dan bersifat reaktif sehingga cenderung bereaksi terus menerus membentuk radikal yang baru (Hernani & Rahardjo, 2005). Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh dan luar tubuh. Radikal bebas sangat berbahaya bagi tubuh manusia karena dapat merusak komponen-komponen sel tubuh seperti lipid, protein, dan DNA.

Dalam keadaan normal, radikal bebas yang diproduksi di dalam tubuh dapat dinetralisir oleh antioksidan yang berada di dalam tubuh, jika kadar radikal bebas terlalu tinggi karena pengaruh dari luar tubuh seperti polusi udara, asap rokok, dan, aktivitas fisik berat maka antioksidan dalam tubuh tidak mampu lagi menetralkan sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar tubuh. Membran lemak sangat rawan terhadap serangan radikal bebas terutama radikal hidroksil sehingga dapat menimbulkan reaksi peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak adalah reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolipid membran sel dengan senyawa

oksigen reaktif membentuk hidroperoksida. Asam lemak utama yang mengalami peroksidasi lemak di dalam membran sel adalah asam lemak polyunsaturated.

Akhir dari peroksidasi lemak ini, berakibat terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksis terhadap sel seperti malondialdehid (MDA). MDA dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas. Akibat dari reaksi peroksidasi lemak yang terus menerus dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, dan penyakit degeneratif lainnya (Bintang, 2010).

D. Antioksidan

1. Definisi

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi. Senyawa antioksidan memegang peranan penting dalam pertahanan tubuh terhadap pengaruh buruk radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit kanker, arteriosklerosis dan penuaan yang disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi sehingga diperlukan suatu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas supaya tidak dapat menginduksi penyakit tertentu (Hernani & Rahardjo, 2005).

Antioksidan alami umumnya terbentuk cairan pekat dan sensitif karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji kandungan antioksidan yang terdapat dalam tanaman kayu apu menggunakan proses ekstraksi secara sederhana sehingga menambah sumber antioksidan alami yang sangat dibutuhkan untuk kesehatan manusia. Tumbuhan obat sebagai salah satu sumber antioksidan alami

sangat potensial memicu peningkatan antioksidan endogen, sehingga mengurangi resiko penyakit (Hernani & Rahardjo, 2005). Kapasitas flavonoid dan fenol sebagai antioksidan tergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksi serta adanya gugus 4-okso dalam cincin C sehingga memutus rantai antioksidan dalam membran makrosomal.

2. Jenis antioksidan

Berdasarkan fungsinya antioksidan dibagi menjadi tiga macam diantaranya, antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier.

2.1. Antioksidan primer. Antioksidan untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru, mengubah O_2 menjadi hidrogen peroksida, glutathion peroksidase (GPx) mengubah hidrogen peroksida dan lipid peroksida menjadi molekul yang kurang berbahaya sebelum mereka membentuk radikal bebas. Antioksidan yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim suproksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase dan katalase yang dapat melindungi hancurnya sel- sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Enzim SOD ada di dalam tubuh dimana kerjanya membutuhkan bantuan zat gizi atau mineral lainya seperti mangan, seng, dan tembaga.

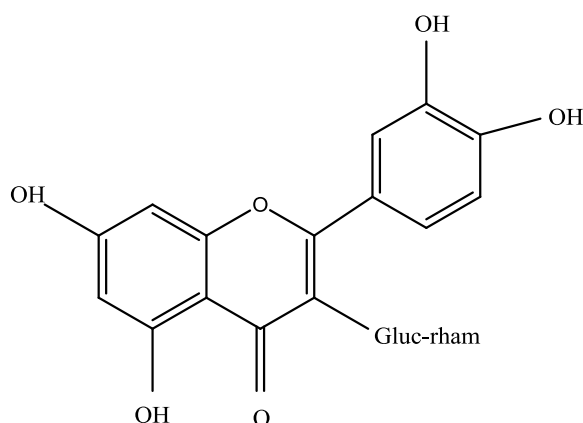
2.2. Antioksidan sekunder. Antioksidan yang berfungsi untuk mengakal radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang besar, contoh: vitamin E (alfa tokoferol), vitamin C (asam askorbat), betakaroten, kurkuminoid, asam urat, bilirubin dan albumin.

2.3. Antioksidan tersier. Antioksidan yang berfungsi untuk memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas,

termasuk dalam kelompok ini adalah jenis enzim, misalnya metionin sulfoksida reduktase yang dapat memperbaiki DNA pada penderita kanker.

3. Rutin

Rutin merupakan flavonoid yang dikenal mempunyai efek antioksidan dan antiinflamasi. Rutin sering digunakan sebagai pembanding pada uji aktifitas antioksidan karena senyawa ini merupakan antioksidan dari golongan flavonoid yang cukup efektif untuk meredam aksi destruktif radikal bebas. Rutin mampu mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel melalui beberapa mekanisme yaitu menangkap radikal oksigen, perlindungan terhadap radikal oksidasi lipid dan mengkelatkan ion logam (Widodo et al, 2001).

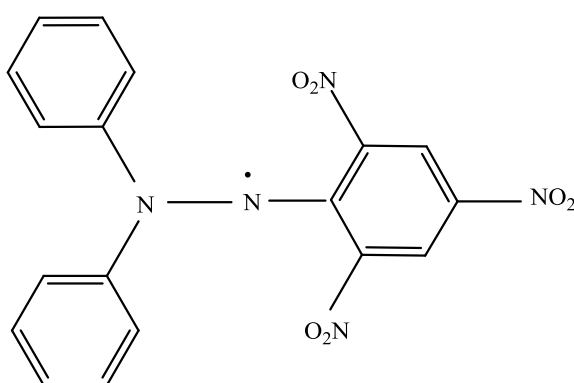


Gambar 1. Struktur kimia Rutin Gluc-rham

4. Uji aktifitas antioksidan

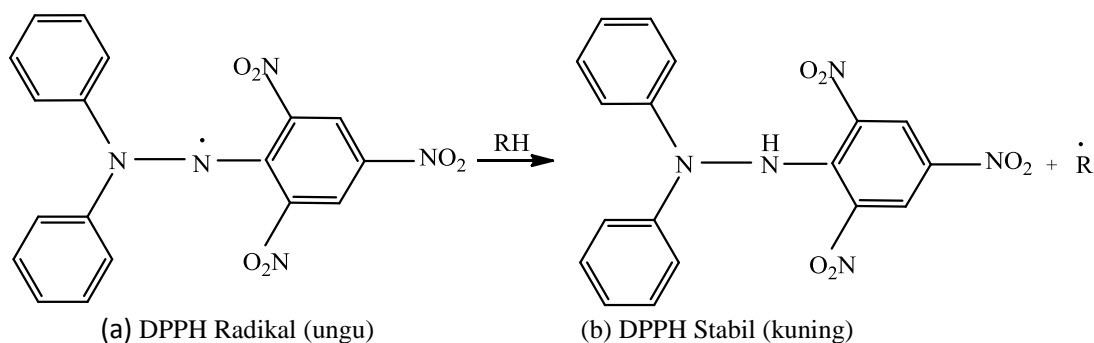
4.1. Pengujian penangkapan radikal (*radical scavenging test*). Metode DPPH merupakan metode uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan IC_{50} . Metode DPPH menunjukkan penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa, jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, larutan akan

berubah warna dari ungu tua menjadi kuning (Bintang, 2010). Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai pereaksi adalah DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Penggunaan DPPH mampu memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, 2007).



Gambar 2. Struktur kimia DPPH

Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH berubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang bersifat non-radikal, perubahan dapat diamati dengan spektrofotometer sehingga aktifitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).



Gambar 3. Mekanisme perubahan warna DPPH akibat pengaruh antioksidan

4.2. Pengujian dengan sistem β -karoten-linoleat. Metode ini didasarkan pada pemucatan warna emulsi sistem β -karoten dan asam oleat. BHT digunakan sebagai pembanding karena BHT memiliki keefektifan sebagai antioksidan yang paling tinggi walaupun memiliki satu gugus hidroksil dan memiliki jumlah resonansi yang sama dengan eugenol, tetapi lebih bersifat nonpolar dibandingkan senyawa lain karena adanya gugus alkil yang lebih tersubstitusi. Pemucatan warna dari sistem merupakan parameter terjadinya reaksi oksidasi. Semakin besar penurunan nilai absorbansinya maka semakin tinggi tingkat oksidasi yang terjadi pada sistem itu (Bintang, 2010).

4.3. Pengujian dengan sistem linoleat-tiosianat. Asam linoleat merupakan asam lemak tidak jenuh dengan dua buah ikatan rangkap yang mudah mengalami oksidasi membentuk peroksida, selanjutnya mengoksidasi ion ferro menjadi ion ferri yang akan bereaksi dengan ammonium tiosianat membentuk kompleks ferri tiosianat ($\text{Fe}(\text{CNS})_3$) yang berwarna merah. Intensitas warna yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Intensitas warna merah yang semakin tinggi menunjukkan semakin banyak peroksida yang terbentuk (Anisyah, 2013).

4.4. Pengujian dengan asam tiobarbiturat (*Thio Barbituric Acid*). Pengujian ini berdasarkan adanya malonaldehid yang terbentuk dari asam lemak babas tak jenuh dengan paling sedikit mempunyai 3 ikatan rangkap dua. Malonaldehid selanjutnya bereaksi dengan asam tiobarbiturat membentuk produk yang berwarna merah muda yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm.

E. Spektrofotometri UV- Vis

1. Definisi

Radiasi elektromagnetik, yang mana sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan salah satunya, dapat dianggap sebagai energi yang merambat dalam bentuk gelombang. Spektrum UV-Vis merupakan koreasi antara absorbansi (sebagai ordinat) dan panjang gelombang (sebagai absis) (Gandjar *et al*, 2009). Kegunaan utama Spektrofotometri UV-Vis adalah untuk identifikasi jumlah ikatan rangkap/konjugasi aromatik (Panji, 2012).

2. Instrumentasi

2.1. Sumber-sumber radiasi. Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-900 nm).

2.2. Monokromator. Mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah/slit. Monokromator berputar sedemikian rupa sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrument melewati spektrum.

2.3. Optik. Dapat didesain untuk memecah sumber sinar sehingga sumber sinar melewati 2 kompartemen dan sebagaimana dalam spektrofotometer berkas ganda (*double beam*), suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel. Semua pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel atau pereaksi merupakan blanko yang paling sering digunakan dalam spektrofotometri.

3. Aspek kualitatif dan kuantitatif

3.1. Aspek kualitatif. Data spektro UV-Vis secara tersendiri tidak dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif obat atau metabolitnya, akan tetapi jika digabung dengan cara lain seperti spektroskopi inframerah, resonansi magnet inti dan spektroskopi massa maka dapat digunakan untuk maksud identifikasi/analisis kualitatif suatu senyawa tersebut. Data yang diperoleh spektro UV dan Vis adalah panjang gelombang maks, intensitas, efek pH dan pelarut.

3.2. Aspek kuantitatif. Suatu berkas radiasi dikenakan cuplikan dan intensitas radiasi diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap. Intensitas/kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satu satuan luas penampang perdetik. Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa Intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. (Gandjar *et al*, 2009).

F. Landasan Teori

Radikal bebas adalah suatu senyawa yang keadaanya bebas dan mempunyai satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan (Fessenden & Fessenden, 1984). Elektron dari radikal bebas sangat mudah menarik elektron dari molekul lainnya sehingga radikal bebas tersebut menjadi lebih reaktif. Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi. Senyawa antioksidan memegang peranan penting dalam pertahanan tubuh terhadap pengaruh buruk yang disebabkan radikal bebas.

Sebagian besar wilayah Indonesia, tanaman kiapu merupakan tanaman air yang masuk dalam kategori gulma dalam danau, kolam, sawah dan tempat berair lainnya karena sifat tanaman yang mudah berkembang. Sampai saat ini pemanfaatan tanaman air masih sangat minim terutama tanaman kiapu/ kayu apu. Tanaman kayu apu mengandung senyawa flavonoid, steroid, glikosida antrakuinon (Ahad *et al*, 2011), fenol, antosianin, saponin, karbohidrat dan tannin (Tulika & Agarwal, 2014).

Dalam penelitian yang dilakukan Sentot Joko Raharjo pada tanaman kiapu (*Pistia stratiotes L*) dilaporkan bahwa senyawa flavonoid terdeteksi pada Rf 0,571 (ekstrak PE). Arifin *et al* (2006) menyatakan bercak flavonoid akan berfluoresensi kuning pada UV 356 nm. Flavonoid dilaporkan memiliki beberapa bioaktivitas seperti antiinflamasi, antibakteri, analgesik, antioksidan, dan antikarsinogenik (Ahad *et al*, 2011).

Senyawa flavonoid dapat diekstraksi menggunakan pelarut n-butanol (Asih & Setiawan, 2008), metanol (Widyawati *et al*, 2010), etanol, etil asetat dan n-heksan. Serbuk tanaman kiapu (*Pistia stratiotes L*) dimaserasi dengan etanol 70%, metode maserasi dipilih karena merupakan proses penyarian yang paling baik untuk bahan obat berupa serbuk simplisia yang halus memungkinkan direndam dalam cairan penyari sampai meresap dan melunakan susunan sel sehingga zat-zat yang mudah larut akan segera larut sehingga senyawa tidak rusak dan strukturnya stabil.

Radikal DPPH pada uji ini ditangkap oleh antioksidan yang melepaskan hidrogen, sehingga membentuk DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) yang

berwarna kuning. Perubahan warna DPPH diikuti penurunan serapan pada panjang gelombang 517 nm sehingga aktifitas antioksidan penangkap radikal bebas data diketahui (Sunarni, 2007).

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode DPPH, hal ini dikarenakan metode ini memiliki keuntungan yaitu sederhana, cepat dan tidak tergantung pada polaritas sampel. Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktifitas antioksidan adalah IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50%.

Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidanya (Pratiwi, 2009). Penggolongan antioksidan tingkat antioksidan kuat ($IC_{50} < 50$ ppm), aktif (IC_{50} 50-100 ppm), sedang (IC_{50} 101-250 ppm), lemah (IC_{50} 250-500 ppm) dan tidak aktif ($IC_{50} > 500$ ppm) (Jun *et al.*, 2003). Perbandingan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa rutin dengan membandingkan ekstrak etanolik tanaman kiapu (*Pistia stratiotes*) yang dinyatakan sebagai IC_{50} .

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, maka dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini yaitu :

1. Ekstrak etanolik tanaman kiapu memiliki aktifitas sebagai antioksidan.
2. Besarnya aktifitas antioksidan ekstrak etanolik tanaman kiapu yang diuji dengan kemampuan nilai $IC_{50} < 100$ ppm dalam menangkap radikal bebas.
3. Tanaman kiapu mengandung senyawa golongan flavonoid, saponin, tannin, steroid.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah tanaman Kiapu (*Pistia stratiotes* L) yang diperoleh dari Desa Jetis Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian tanaman kiapu yang tumbuh di kolam dan sawah, diambil saat masih segar dengan berbagai umur dan ukuran di Desa Jetis Kwarasan, Grogol, Sukoharjo pada bulan Januari 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dari ekstrak etanolik herba kiapu terhadap radikal bebas DPPH.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dari semua variabel yang diteliti. Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan menjadi variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanolik herba kiapu. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah radikal bebas DPPH, alat, kualitas bahan simplisia dan serbuk daun. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya antioksidan dari ekstrak etanolik herba kiapu.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, tanaman kiapu adalah tanaman yang diambil dengan berbagai umur dan ukuran di Desa Jetis Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017.

Kedua, ekstrak etanolik adalah ekstrak hasil ekstraksi serbuk tanaman kiapu dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 5 hari yang kemudian dipekatkan dengan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu 40°C.

Ketiga, DPPH adalah radikal bebas sintetik yang stabil dalam larutan metanol pro analisa dengan konsentrasi 0,45 mM.

Keempat, aktivitas antioksidan adalah kemampuan dari ekstrak etanolik herba kiapu dalam menangkap radikal bebas DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} .

C. Bahan dan Alat

Bahan utama dalam penelitian ini adalah tanaman kiapu yang diambil dari Desa Jetis Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, metanol pro analisa, standart rutin dari Merck, dan pereaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dari Sigma.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggiling, botol maserasi, ayakan no.40, oven, Spektrofotometer UV-Vis (Hitachi-U2900), timbangan analitik (Ohaus PA214), *Vacuum Rotary Evaporator* (Heidolph Laborata-4000), *Moisture Balance* (Ohaus-MB 23), labu takar, gelas ukur dan alat gelas lainnya.

D. Jalanya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk menetapkan kebenaran tanaman kiapu yang berasal dari Desa Jetis Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa tengah yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah benar. Tanaman yang akan diteliti dideterminasi terlebih dahulu.

2. Persiapan bahan

Tanaman kiapu yang diambil dari Desa Jetis Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah sebagai gulma di area persawahan dan kolam. Tanaman yang diambil adalah tanaman yang berwarna hijau, sehat, tidak berhama. Tanaman dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel kemudian dikeringkan di dalam oven pada temperatur 51°C.

3. Pembuatan serbuk

Tanaman kiapu dikeringkan dalam oven sampai kadar air tinggal 10%. Tanaman kiapu yang sudah kering kemudian diserbukkan dengan cara digiling dengan mesin penyerbuk. Setelah digiling halus serbuk diayak menggunakan pengayak ukuran 40. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup.

4. Penetapan kadar kelembaban serbuk tanaman kiapu

Penetapan kadar kelembaban serbuk tanaman kiapu dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Penimbangan serbuk tanaman kiapu sebanyak 2 gram. Penetapan dilakukan pada suhu 105°C ditunggu sampai muncul angka dalam persen.

5. Pembuatan ekstrak etanol herba kiapu

Serbuk tanaman kiapu sebanyak 600 gram dimasukkan dalam botol maserasi, ditambah dengan pelarut etanol 70% sebanyak 4500 ml dengan perbandingan 1:7,5 botol ditutup kemudian dikocok. Botol yang digunakan berwarna gelap atau coklat. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan penggojokan secara teratur, disimpan pada suhu ruang dihindarkan dari sinar matahari. Setelah 5 hari maserasi, disaring dengan kain flannel dan kertas saring ditambah 2,5 bagian pelarut. Ekstrak cair dipekatkan di *Vacuum Rotary Evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental kemudian dipekatkan dalam oven dengan suhu 50°C.

6. Identifikasi kandungan kimia

6.1.6. Identifikasi fenolik dan tannin. Sebanyak 1 ml ekstrak etanolik herba kiapu ditambahkan FeCl_3 . Hasil positif jika terbentuk warna hijau, merah ungu, biru atau hitam yang kuat (Harborne, 1987). Sampel ekstrak etanolik herba kiapu positif mengandung tannin bila mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Hulselan *et al*, 2015).

6.2. Identifikasi flavonoid. Sebanyak 1 ml ekstrak etanolik herba kiapu dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Setelah itu ditambahkan serbuk magnesium (Mg) kemudian dilakukan pengocokan kuat. Sampel positif mengandung flavonoid bila mengalami perubahan warna menjadi warna jingga (Hulselan *et al*, 2015).

6.3. Identifikasi steroid. Sebanyak 1 ml ekstrak etanolik herba kiapu dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 0,5 ml asam asetat anhidrat,

ditambahkan 0,5 ml kloroform ditambahkan 1 tetes asam sulfat dan dikocok. Sampel positif mengandung steroid bila terbentuk warna biru (Harborne, 1987).

6.4. Identifikasi Saponin. Sebanyak 1 ml ekstrak etanolik herba kiapu dimasukan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml air panas dan dtambahkan 2 tetes HCl 2N dan dikocok kuat. Setelah itu dilihat apakah terbentuk buih setelah didiamkan selama 10 menit. Sampel positif mengandung saponin bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan konsisten selama 10 menit (Huliselan *et al*, 2015).

7. Pembuatan larutan DPPH

Larutan pereaksi adalah larutan DPPH 0,45 mM dalam pelarut metanol pro analisa. Dibuat dengan menimbang 0,01769 gram serbuk DPPH kemudian dimasukan dalam labu takar 100 ml, lalu ditambahkan methanol pro analisa sampai tanda batas. Sehingga diperoleh konsentrasi 0,45 mM yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol.

8. Penetapan panjang gelombang maksimal DPPH

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimal larutan DPPH dilakukan dengan cara 0,1 ml larutan DPPH ditambah 4,0 ml metanol pro analisa, kemudian dikocok dan diamati serapanya pada rentang 500-530 nm.

9. Penentuan *operating time* DPPH

Larutan stok DPPH diambil sebanyak 1,0 ml dan ditempatkan dalam vial, ditambah metanol pro analisa 4,0 ml. penentuan *operating time* dilakukan pada λ 517 nm dengan interval 5 menit sampai didapat absorbansi yang stabil dan tidak terlihat adanya penurunan absorbansi (Purwanto, 2010).

10. Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol herba kiapu dilakukan dengan membagi ekstrak menjadi 5 seri konsentrasi yang pembacaan absorbansinya dilakukan antara 0,2-0,8. Setiap konsentrasi larutan uji dipipet sebanyak 4,0 ml kemudian ditambah masing-masing 1 ml larutan pereaksi DPPH dalam vial ditutup rapat agar terhindar dari cahaya kemudian didiamkan dengan waktu pendiaman berdasarkan hasil penentuan *operating time*. Blanko dibuat dengan cara dipipet 4 ml ditambah 1 ml larutan DPPH. Penentuan Absorbansi diamati pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya.

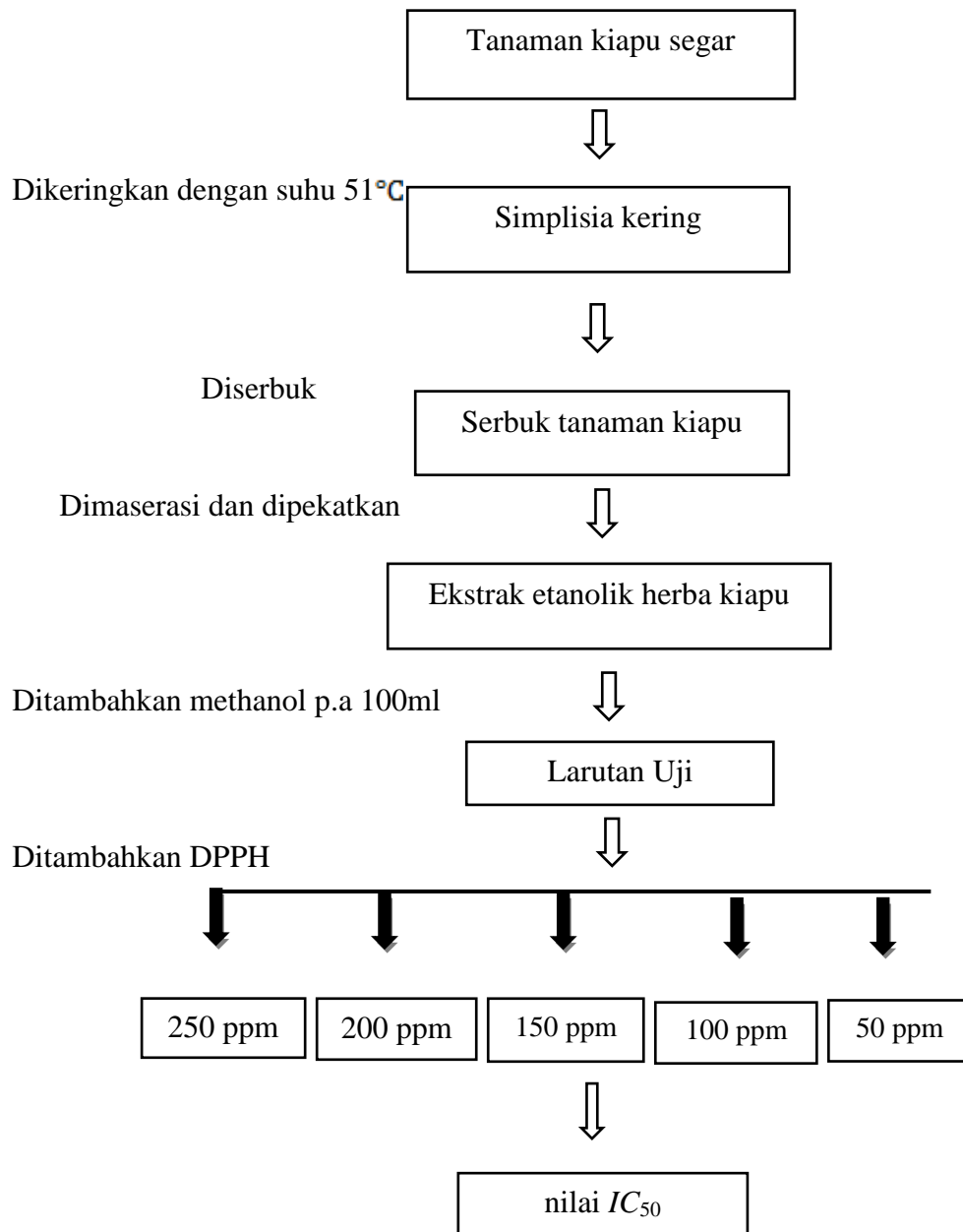
E. Analisa data

Aktivitas penangkap radikal bebas DPPH dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Setelah didapatkan data yang dibutuhkan, dilakukan perhitungan aktivitas antioksidan radikal bebas DPPH (%) ekstrak etanol dan rutin dihitung dengan metode probit dari persamaan linier ($y = a+bx$) atau dengan persamaan linier ($y = a+bx$) dengan perbandingan antara prosentase preredaman (y) dengan log konsentrasi (x) dan ditentukan IC_{50} nya.

F. Skema Jalanya Penelitian



Gambar 4. Skema jalanya penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman merupakan langkah awal dalam penelitian yang menggunakan sampel berupa tanaman. Determinasi dari tanaman kiapu dilakukan di Unit Pelaksanaan Teknis Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Berdasarkan steenis: FLORA (1978) diperoleh hasil determinasi tanaman kiapu sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10a. golongan 7.92a-93b-94b-95a. familia 22. Araceae.

1a. 1. Pistia. *Pistia stratiotes* L. keterangan identifikasi tumbuhan dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Pengeringan Bahan dan Pembuatan Serbuk

1. Persiapan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kiapu yang berasal dari Desa Jetis Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah. Pengumpulan bahan dilakukan dengan memilih tanaman yang segar dan menghilangkan daun yang sudah berwarna kuning. Tanaman yang diambil dicuci bersih lalu dikeringkan dalam oven dengan temperatur 51°C dan diperoleh 600 gram tanaman kering sehingga rendemen yang diperoleh sebesar 13,04 %. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 3.

2. Pembuatan Serbuk

Tanaman kiapu yang sudah kering sebanyak 600 gram diserbukkan dengan cara digiling kemudian diayak dengan pengayak ukuran 40, bertujuan untuk memperoleh derajat kehalusan serbuk dan luas partikel yang cocok sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung efektif. Hasil penyerbukan yang sudah berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat.

3. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk tanaman kiapu

Penetapan kadar kelembaban serbuk tanaman kiapu pada suhu 105°C menggunakan alat *Moisture Balance*. Tujuan mengetahui kadar kelembaban adalah untuk memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

Tabel 1. Hasil kadar kelembaban serbuk tanaman kiapu

Berat awal (gram)	Kadar kelembaban (%)
2.03	11.5
2.04	9.5
2.04	8.7
Rata- Rata	9.8 \pm 1.493

Berdasarkan Tabel 1, hasil rata-rata kadar kelembaban serbuk tanaman kiapu sebesar 9.8% \pm 1,493, hal ini menunjukkan bahwa proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar air kurang dari 10%.

C. Pembuatan Ekstrak

Penelitian ini menggunakan proses penyarian dengan metode maserasi selama 5 hari. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Penyari etanol merupakan penyari yang bersifat polar dan universal sehingga diharapkan senyawa yang berpotensi sebagai anti radikal bebas dapat tertarik dari dalam sel tanaman kiapu. Maserasi dilakukan dengan pengadukan berkala untuk mendapatkan perbedaan konsentrasi didalam dan diluar serbuk tanaman kiapu. Konsentrasi yang berbeda diharapkan kandungan senyawa kimia akan tertarik keluar bersama dengan pelarut.

Wadah yang digunakan dalam maserasi harus berwarna gelap untuk menghindarkan dari sinar matahari langsung yang dapat merusak senyawa di dalam simplisia yang tidak tahan terhadap pemanasan. Setelah 5 hari hasil perendaman disaring lalu dipekatkan dengan *Vacuum Rotary Evaporator* dengan suhu 50°C hingga kental. Hasil ekstraksi 600 gram serbuk tanaman kiapu didapatkan 62,5876 gram ekstrak etanolik, sehingga rendemennya sebesar 13,04%. Perhitungan rendemen ekstrak etanolik herba kiapu dapat dilihat pada Lampiran 3.

D. Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak Tanaman Kiapu

Skrinin fitokimia kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat pada tanaman kiapu. Berdasarkan hasil skrining fitokimia kualitatif masing-masing kandungan senyawa dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanoik

tanaman kiapu mengandung senyawa fenolik, tannin, flavonoid, triterpenoid, dan saponin. Foto skrining fitokimia dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanolik herba kiapu

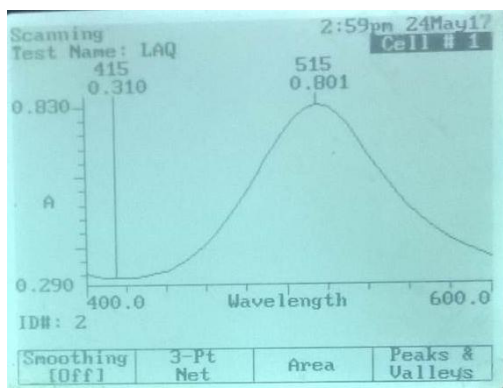
Senyawa		Hasil uji	Keterangan
Fenol	1m ekstrak + FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	(+) Fenol
Tanin	1ml ekstrak + FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	(+) Tanin
Flavonoid	1ml ekstrak +HCl pkt 2tts+ Mg	Terbentuk warna jingga	(+) Flavonoid
Triterpen/steroid	1ml Ekstrak+ as asetat anh+0,5 kloroform+1tts as sulfat	Terbentuk warna merah jingga	(+) Triterpen
Saponin	1ml Ekstrak+ 5ml air panas+ 2tts HCl 2N	Terbentuk busa	(+) Saponin

E. Pegujian Akifitas Antioksidan

1. Penetapan panjang gelombang maksimal DPPH

Pengukuran panjang gelombang ini bertujuan untuk mengetahui pada panjang gelombang dimana DPPH paling stabil. Hasil pengukuran panjang gelombang DPPH sebesar 515 nm dengan absorbansi 0,801. Grafik panjang

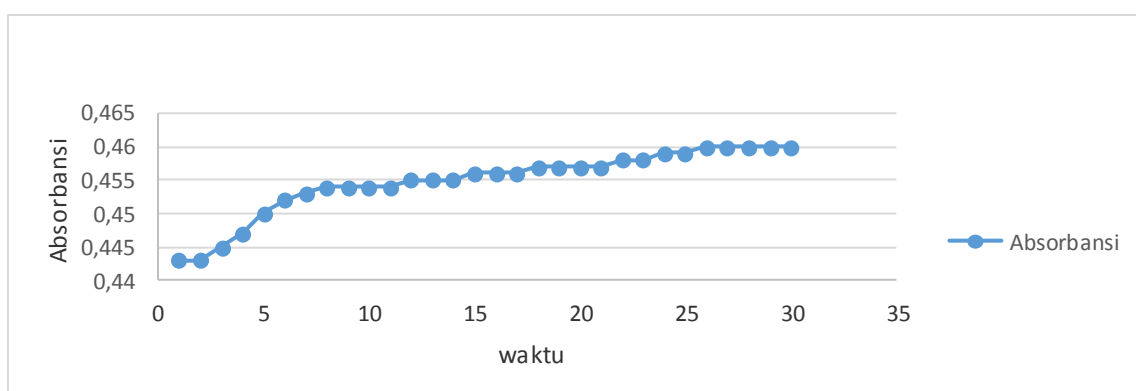
gelombang maksimum DPPH 0,45 nM dapat dilihat pada gambar 1, data pada lampiran 4.



Gambar 1. Kurva serapan DPPH

2. Penetapan *operating time* DPPH

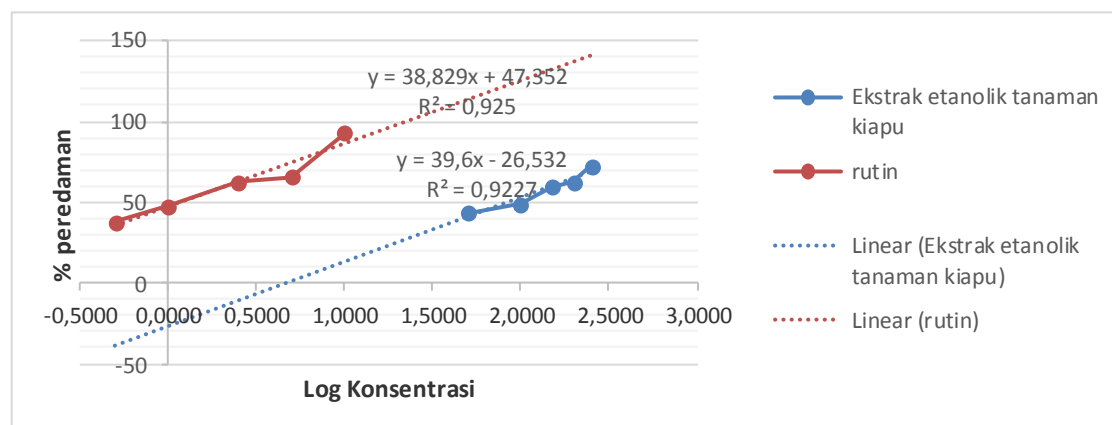
Operating Time digunakan untuk menentukan waktu yang paling tepat untuk melakukan uji dimana zat uji mampu meredap radikal DPPH dengan stabil. *Operating Time* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 menit. Hasil pengukuran rutin mulai stabil pada menit ke-26. Pada menit ke-30 semuanya masih stabil, sehingga *operating time* ditentukan pada menit ke-30. Data lengkap penentuan *Operating Time* dapat dilihat pada lampiran 4.



Gambar 2. Kurva *Operating time*

3. Uji aktivitas antioksidan

Uji aktifitas antioksidan dibuat dengan membagi 5 seri konsentrasi larutan uji. Rutin sebagai pembanding (kontrol positif). Hasil uji aktivitas antioksidan terdapat pada table 3, serta perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 8-11.



Gambar 4. Grafik perbandingan ekstrak etanolik dan rutin berdasarkan %peredaman versus log konsentrasi

Tabel 3. Hubungan konsentrasi ekstrak etanolik herba kiapu dan pembanding rutin terhadap peredaman DPPH.

Bahan	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata peredaman %	IC ₅₀
Ekstrak etanolik herba kiapu	250	72,3275	85,41
	200	62,7243	
	150	59,1357	
	100	49,1029	
	50	43,2651	
rutin	10	93,1008	1,170
	5	65,4536	
	2,5	62,8001	
	1	47,4855	
	0,5	37,6548	

Berdasarkan tabel di atas, konsentrasi ekstrak etanolik herba kiapu berbanding lurus dengan persen peredaman. Persen peredaman tertinggi tanaman kayu apu dimiliki oleh konsentrasi tertinggi yaitu 250 ppm dan nilai terendah dimiliki oleh konsentrasi terendah yaitu 50 ppm. Semakin tinggi konsentrasinya maka semakin tinggi juga persen peredamannya. Aktivitas peredaman radikal DPPH yang lebih kuat adalah rutin yang digunakan sebagai senyawa pembanding, hal ini disebabkan karena rutin merupakan senyawa murni sebagai glikosida flavonoid yang sudah terbukti aktivitas antioksidannya, sedangkan ekstrak etanolik herba kiapu bukan merupakan senyawa murni tetapi masih mengandung berbagai senyawa-senyawa campuran.

Proses peredaman radikal bebas oleh larutan uji dapat dilihat dari perubahan warna ungu pada larutan DPPH menjadi warna kuning diikuti penurunan absorbansi. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning inilah yang dapat diukur secara spektrofotometri. Kristal DPPH yang sudah dilarutkan akan berperan sebagai radikal bebas dan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil akan berubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang bersifat non radikal dan tidak berbahaya.

Data persen peredaman selanjutnya dihitung IC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan rumus $y = a+bx$. Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang dapat meredam DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} dari larutan uji ekstrak etanolik dan rutin dapat dilihat pada table 3 dan data pada lampiran 6 dan 7.

Nilai IC_{50} ekstrak etanolik herba kiapu sebesar 85,41 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan penggolongan antioksidan menurut Jun et al (2003), maka ekstrak etanolik herba kiapu tergolong antioksidan yang aktif (IC_{50} 50-100 ppm), sedangkan rutin termasuk antioksidan kuat ($IC_{50} < 50$ ppm) dengan nilai IC_{50} sebesar 1,170 $\mu\text{g/mL}$.

Ekstrak etanolik herba kiapu memiliki aktivitas antioksidan karena adanya kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa fenolik bisa digunakan untuk meredam radikal bebas karena memiliki gugus hidroksil fenolik yang mudah untuk menyumbangkan atom hidrogen atau elektron ke radikal bebas dan ada sistem-sistem aromatik terkonjugasi yang panjang untuk delokalisasi elektron yang tidak berpasangan (Dai & Mumper, 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, ekstrak etanolik tanaman kiapu memiliki aktivitas antioksidan

Kedua, aktivitas antioksidan ekstrak etanolik tanaman kiapu yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} yaitu sebesar $85,41 \mu\text{g/mL}$.

Ketiga, ekstrak etanolik tanaman kiapu mengandung senyawa fenol, tannin, flavonoid, triterpenoid, saponin.

B. Saran

Pertama, perlu penelitian lebih lanjut untuk melakukan fraksinasi ekstrak etanolik tanaman kiapu.

Kedua, perlu mengisolasi senyawa aktif sebagai antioksidan dalam tanaman kiapu.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian antioksidan pada tanaman kiapu dengan menggunakan metode selain DPPH untuk mengetahui seberapa besar potensi antioksidan terhadap jenis radikal yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- [Departemen Kesehatan]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm 4-6.
- Ahad KAA, Prasanta P, Islam Md. T, Biswas NN, Sadhu SK. 2011. Cytotoxicity, Antimicrobial and Neuropharmacological Evaluation of Ethanolic Extract of *Pistia stratiotes* L. *Int Res, Journal Pharm* 2(2): 82–92.
- Afriana N. 2015. Uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air ekstrak etanolik daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap radikal DPPH [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Arifin, Helmi, Nelvi A, Dian H, Roslinda R. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia cumini* Merr. *J Sains Tek Far* 11: 88–93.
- Asih, Astiti IAR, Setiawan IMA. 2008. Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak N-Butanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstroemia Speciosa* Pers). *Jurnal Kimia* 2 2: 111–116.
- Bintang M. 2010. Biokimia- teknik penelitian. Jakarta: Erlangga.
- Cook, NC, Samman S. 1996. Review Flavonoids-Chemistry, Metabolism, cardioprotective Effect, and Dietary Sources. *J Nutr Biochem* (7): 66-76.
- Cordell AG. 2000. Biodiversity and Drug Discoery-a Symbiotic Relationship. *Phytochemistry* 55(6): 463-480.
- Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15: 7313-7352.
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* : 82:47-95.
- Fessenden RJ dan Fessenden JS. 1984. Kimia Organik. Edisi Ketiga. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari : *Organic chemistry*
- Gandjar, Gholib I, Rohman, Abdul, Sudjadi. 2009. Kimia Farmasi Analisis. Jakarta: Pustaka Pelajar.
- Handayani S. 2013. Kandungan flavonoid kulit batang dan daun pohon api-api (*Avicennia marina* (Forks.)Vierh.) sebagai senyawa aktif antioksidan [Skripsi]. Bogor : Fakultas perikanan dan ilmu kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB Bandung. Hlm 8-5, 70-72, 103. Terjemahan dari : *Phytochemical Methods*.

- Hertog, Michael GL, Peter CH, Hollman, Dini P, Venema. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 Fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem* (40): 2379-2383.
- Hernani, Rahardjo M. 2005. Tanaman berkhasiat antioksidan. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hidayat MK, Izzati M, Setiari N. 2011. Produksi dan konsumsi oksigen serta pertumbuhan *Ceratophyllum demersum* L pada kerapatan yang berbeda dalam mendukung potensinya sebagai bioaerator. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* vol: 19 no2.
- Huliselan YM, Runtuwene M, Wewewngkang D. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari daun sesewanua. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 4(3): 2302-2493.
- Jacob, R.A. and Burri, B.J. Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr.*, 1996; 63:9858-9908.
- Kurniawan M, Munifatul I, Yuliati N. 2010. Kandungan klorofil, karotenoid dan vitamin c pada beberapa spesies tumbuhan aquatik. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* Vol XVIII no.1
- Kurniawan EY. 2014. Penetapan kandungan fenolik total dan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanolik akar apu-apu [Abstrak]. Yogyakarta; Universitas Sanata Dharma
- Markham KR. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari: *Techniques of Flavonoid Identification*.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radicals diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J Sci Technol* 26(2): 211-219.
- Patria WD, Soegihardjo CJ. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan radikal DPPH dan penetapan kandungan fenolik total fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun benalu (*Dendrophthoe pentandra* L) yang tumbuh di pohon kepel (*Stelechocarpus burahol* Hook). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* 10 : 51-60.
- Prakash A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. Vol.19, No.2
- Raharjo SJ, Ningsih RW. 2015. Cytotoxic activities of ethyl acetate fractions from petroleum ether extract and methanol extract of pistiae leaves. *Traditional Medicine Journal* 20(3):134-139.

- Ramey. V. 2001. Water Lettuce (*Pistia stratiotes*). *J Aquatic And Invasive Plants* 5(8);4-17
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* Vol.9 No.2: 196-202.
- Rijal M. 2014. Studi morfologi kayu apu (*Pistia stratiotes*) dan kiambang (*Salvinia molesta*). *J Biologi Sel* vol 3 no.2.
- Tyagi TR, Agarwal MH. 2014. Aquatic Plants *Pistia stratiotes* L and *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms: An Sustainable Ecofriendly Bioresource – A Review. *International Journal for Pharmateutical Research Scholars (IJPRS)* 3(1-2): 540-550.
- Tri P. 2012. Teknik spektroskopi. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Widodo T *et al.* 2001. uji peredaman radikal bebas terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazyl dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinera* L) Probolinggo biru dan Bali. *Artocarpus* 1(1): 35-39.
- Widyawati PS, Wijaya H, Harjosworo PS, Sajuthi D. 2012. Aktivitas Antioksidan Berbagai Fraksi Ekstrak Metanolik Daun Beluntas (*Pluchea indica* L). *Agritech* vol 32.
- Wirawan, Wiweka A, Ruslan W, Liliya DS. 2014. Pengolahan Limbah Cair Domestik Menggunakan Tanaman Kayu Apu (*Pistia Stratiotes* L.) dengan Teknik Tanam Hidroponik Sistem DFT (*Deep Flow Technique*). *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan* 1, 63–70.
- Wolverton BC, Mcknown MM. 1973. Waterhyacinth for Removal of Phenols From polluted Waters in Aquatic Botany. *Elsevier Scientific Publishing Company*. Amsterdam.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Gambar dan Hasil determinasi tanaman Kiapu



Gambar 5. Tanaman Kiapu (*Pistia stratiotes* L)

Determinasi Tanaman Kiapu (*Pistia stratiotes* L)



No : 164/DET/UPT-LAB/04/V/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Yohana Kristi Hendranata
NIM : 17141064 B
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kayu apu (*Pistia stratiotes* L.)**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10a. golongan 7. 92a - 93b - 94b - 95a. familia 22. Araceae. 1a. 1. Pistia. *Pistia stratiotes* L.

Deskripsi :

Habitus : Herba, tinggi 5 - 10 cm, pada air tawar yang menggenang atau mengalir lambat.
Akar : Akar menggantung dalam air.
Batang : Batang pendek, tebal, tegak lurus, dengan tunas menjalar.
Daun : Daun berjejal rapat menjadi roset, berdiri serong, berbentuk baji sampai persegitiga terbalik, panjang 3 - 10 cm, lebar 3 - 6,5 cm, dengan ujung yang membulat lebar dan sedikit melekok ke dalam, dengan pangkal daun yang serupa spons dan berambut, kerap kali keriting; tulang daun berpangkal semua pada baris daun.
Bunga : Tongkol di ketiak daun, tangkai panjang lk 1 cm, berambut. Seludang dengan pangkal yang menggulung berbentuk tabung, putih hijau, dari luar berambut. Seludang dengan pangkal yang menggulung berbentuk tabung, putih hijau, dari luar berambut, panjang lk 1 cm; bagian atas dengan suatu penyempitan melintang terbagi menjadi dua bagian. Sumbu tongkol pada pangkalnya melekat dengan seludang, ujung bebas, pada pangkal dari bagian yang bebas dengan pembalut yang berbentuk cawan, berhadapan dengan kepala putik dengan alat tambahan berbentuk ginjal, pada pangkal dengan sebuah bunga betina, pada ujungnya dengan bunga jantan yang tersusun menjadi karangan, bunga masing-masing terdiri dari hanya 1 benang sari saja. Tangkai sari berbentuk kerucut, pendek; kepala putik lebar.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT PradnyaParamita. Jl. KebonSirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 04 Mei 2017

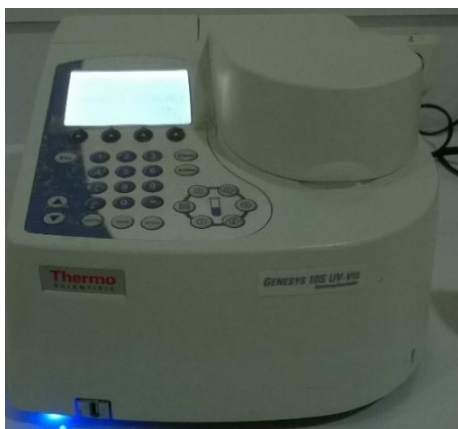
Pengetahuan



Dra. Kartimah Wirjosoendjojo, SU

Lampiran 2. Foto alat dan bahan

neraca ohaus



spekto uv vis



moisture balance



ekstrak pekat herba kiapu



larutan DPPH



rotary evaporator

Lampiran 3. Hasil perhitungan rendemen serbuk, Ekstrak dan kadar kelembaban tanaman kiapu

1. Perhitungan rendemen tanaman kiapu

Berat tanaman kiapu basah = 4600 gram

Berat tanaman kiapu setelah kering = 600 gram

$$\begin{aligned} \text{rendemen} &= \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{600}{4600} \times 100\% = 13.04\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan rendemen ekstrak pekat etanol herba kiapu

Berat wadah + ekstrak = 201.6539 gram

Berat kosong = 139.0663 gram

= 62.5876 gram

Serbuk (gram)	Berat kental ekstrak etanol	Rendemen (%)
100	62.5876	62.5876

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot akhir (gram)}}{\text{bobot awal (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{62.5876}{100} \times 100\% = 62.587 \end{aligned}$$

3. Hasil perhitungan penetapan kadar lembab tanaman kiapu

Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Kadar lembab (%)
2.03	2.01	11.5
2.04	2.02	9.5
2.04	2.02	8.7
Rata-rata		9.8 ± 1.493

Data yang dicurigai adalah (x) = 11,5

$$\text{Porsentase rata-rata } (\bar{x}) = \frac{9.2+8.7}{2} = 8.95$$

Analisa statistik yang digunakan dengan rumus

$$SD = \sqrt{\frac{\sum |x - \bar{x}|^2}{n-1}}$$

Dimana : x = prosentase bobot kering

$x - \bar{x}$ = devisiasi atau simpangan

n = banyaknya yang diulang

SD = standar deviasi atau simpangan baku

X	\bar{x}	d= $ x - \bar{x} $	d^2
11.5		1.7	2.89
9.2	9.8	0.6	0.36
8.7		1.1	1.21
Jumlah			4.46

$$SD = \sqrt{\frac{4.46}{2}}$$

$$SD = \sqrt{2.23}$$

$$SD = 1.493$$

Prosentase rata-rata menggunakan taraf kepercayaan 95%

$$|x - \bar{x}| < 2.SD \rightarrow \text{data diterima}$$

$$|11.5 - 9.8| < 2 \times 1.493$$

$$1.7 < 2.986 \rightarrow \text{data diterima}$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi susut pengeringan} &= \frac{11.3+9+8.7}{3} \\ &= 9.73 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4. Perhitungan pembuatan larutan DPPH 0.45 mM

1. Penimbangan DPPH 0.45 mM

Berat serbuk DPPH = BM DPPH x volume larutan x molaritas DPPH

$$= 394.32 \text{ g/Mol} \times 0.1 \text{ liter} \times 0.00045 \text{ mol/liter}$$

$$= 0.01774444 \text{ gram}$$

Selanjutnya dilarutkan dalam 100 ml methanol pa di labu takar 100 ml.

2. Hasil penimbangan serbuk DPPH

$$\text{Berat kertas + zat} = 0,04680 \text{ gram}$$

$$\text{Berat kertas + sisa} = 0.02911 \text{ gram}$$

$$\begin{array}{r} \text{zat} \\ \hline = 0.01769 \text{ gram} \end{array}$$

Lampiran 5. Pengukuran absorbansi untuk penentuan Panjang Gelombang maksimum dan penentuan *Operating Time*.

1. Penentuan Panjang Gelombang

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
400	0.326	500	0.735
410	0.312	510	0.792
420	0.311	515	0.801
430	0.318	530	0.742
440	0.331	540	0.659
450	0.358	550	0.579
460	0.406	560	0.510
470	0.471	570	0.459
480	0.555	590	0.390
490	0.647	600	0.364

2. Penentuan *Operating Time*

Menit ke	Absorbansi	Menit ke	Absorbansi
1	0.443	16	0.456
2	0.443	17	0.456
3	0.445	18	0.457
4	0.447	19	0.457
5	0.450	20	0.457
6	0.452	21	0.457
7	0.453	22	0.458
8	0.454	23	0.458
9	0.454	24	0.459
10	0.454	25	0.459
11	0.454	26	0.460
12	0.455	27	0.460
13	0.455	28	0.460
14	0.455	29	0.460
15	0.456	30	0.460

Lampiran 6. Perhitungan seri konsentrasi ekstrak etanolik herba kiapu dan rutin

1. Pembuatan larutan stok ekstrak etanolik tanaman kiapu

Pembuatan dilakukan dengan penimbangan 0.0250 gram ekstrak etanolik tanamana kiapu kemudian dilarutkan dengan methanol p.a sampai larut pada labu takar 50 ml ditambah methanol p.asampai tanda batas.

Data penimbangan sebagai berikut :

Bahan	Berat cawan (gram)	Cawan + zat (gram)	Berat bahan (gram)
Ekstrak etanolik tanaman kiapu	12.2148	12.2398	0.0250

Perhitungan pembuatan larutan stok ekstrak etanolik tanaman kiapu

$$500 \text{ ppm} = 500/1 \times 10^6 = 5 \times 10^{-4} / \text{ml}$$

$$\text{Dalam 50ml} = 50 \times 5 \times 10^{-4}$$

$$= 0.0250 \text{ gram}$$

Dilakukan pengenceran menjadi beberapa seri konsentrasi :

No	Larutan yang dibuat		Larutan stok	
	Konsentrasi (ppm)	Volume (ml)	Konsentrasi (ppm)	Volume dipipet (ml)
1	250	25	500	12.5
2	200	25	500	10
3	150	25	500	7.5
4	100	25	500	5
5	50	25	500	2.5

Contoh perhitungan konsentrasi

$$V_{\text{stok}} \times C_{\text{stok}} = V_2 \times C_2$$

$$V_{\text{stok}} = \frac{25 \times 250}{500} = 12.5 \text{ ml}$$

Larutan uji konsentrasi 250 ppm dibuat dengan memipet 12.5 ml larutan stok kemudian dimasukkan kedalam labu takar 25 ml ditambah methanol p.a sampai tanda batas.

1. Pembuatan larutan stok rutin

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan menimbang 5 mg serbuk rutin kemudian dilarutkan dengan metanol p.a ke dalam labu takar 50 ml sampai tanda batas.

Dilakukan pengenceran menjadi beberapa konsentrasi :

No	Larutan yang dibuat		Larutan stok	
	Konsentrasi (ppm)	Volume (ml)	Konsentrasi (ppm)	Volume dipipet (ml)
1	10	50	100	5
2	5	50	100	2.5
3	2.5	50	100	1.25
4	1	50	100	0.5
5	0.5	100	100	0.5

Contoh perhitungan konsentrasi

$$V_{\text{stok}} \times C_{\text{stok}} = V_2 \times C_2$$

$$V_{\text{stok}} = \frac{50 \times 10}{100} = 5 \text{ ml}$$

Larutan uji konsentrasi 10 ppm dibuat dengan memipet 5 ml larutan stok kemudian dimasukkan kedalam labu takar 50 ml ditambah methanol p.a sampai tanda batas.

Lampiran 7. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC_{50} ekstrak etanolik herba kiapu

Rumus perhitungan prosentase peredaman DPPH :

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Absorbansi kontrol = 1.319

konsentrasi				
(mg/L)	Absorbansi I	Absorbansi 2	Absorbansi 3	\bar{X}
250	0.371	0.356	0.368	0.3650
200	0.494	0.489	0.492	0.4917
150	0.540	0.535	0.542	0.5390
100	0.678	0.662	0.674	0.6713
50	0.753	0.742	0.750	0.7483

\bar{X}	% Peredaman (y)	Log konsentrasi (x)
0.3650	72.3275	2.3979
0.4917	62.7243	2.3010
0.5390	59.1357	2.1761
0.6713	49.1029	2.000
0.7483	43.2651	1.6990

1. konsentrasi 250 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.365}{1.319} \times 100\% = 72.3275\%$$

2. Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.4917}{1.319} \times 100\% = 62.7243\%$$

3. Konsentrasi 150 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.5390}{1.319} \times 100\% = 59.1357\%$$

4. Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.6713}{1.319} \times 100\% = 49.1029\%$$

5. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.7483}{1.319} \times 100\% = 43.2651\%$$

hasil regresi linier log konsentrasi (x) dengan % peredaman (y)

$$a = -27.0502$$

$$b = 39.8908$$

$$r = 0.9630$$

$$\text{persamaan } y = a + bx \quad y = -27.0502 + 39.8908x$$

$$50\% \text{ peredaman} \quad 5 = -27.0502 + 39.8908x$$

$$x = 1.931529$$

$$IC_{50} = \text{antilog } 1,931529 = 85.41 \text{ mg/L}$$

Jadi nilai IC_{50} ekstrak etanolik tanaman kiapu adalah 85.41 mg/L

Lampiran 8. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC_{50} rutin

Rumus perhitungan prosentase peredaman DPPH :

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Absorbansi kontrol = 1.319

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi I	Absorbansi 2	Absorbansi 3	\bar{X}
10	0.088	0.096	0.089	0.0910
5	0.430	0.502	0.435	0.4557
2.5	0.491	0.495	0.486	0.4907
1	0.696	0.689	0.693	0.6927
0.5	0.843	0.786	0.838	0.8223

\bar{X}	% Peredaman (y)	Log konsentrasi (x)
0.0910	93.1008	1
0.4557	65.4536	0.6990
0.4907	62.8001	0.3979
0.6927	47.4855	0
0.8223	37.6548	-0.3010

1. konsentrasi 10 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.0910}{1.319} \times 100\% = 93.1008\%$$

2. Konsentrasi 5 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.4557}{1.319} \times 100\% = 65.4536\%$$

3. Konsentrasi 2,5 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.4907}{1.319} \times 100\% = 62.8001\%$$

4. Konsentrasi 1 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.6927}{1.319} \times 100\% = 47.4855\%$$

5. Konsentrasi 0,5 ppm

$$\% \text{ peredaman} = \frac{1.319 - 0.8223}{1.319} \times 100\% = 37.6548\%$$

hasil regresi linier log konsentrasi (x) dengan % peredaman (y)

$$a = 47.35244$$

$$b = 38.82922$$

$$r = 0.961766$$

$$\text{persamaan } y = a + bx \quad y = 47.35244 + 38.82922x$$

$$50\% \text{ peredaman} \quad 5 = 47.35244 + 38.82922x$$

$$x = 0.068185$$

$$IC_{50} = \text{antilog } 0,068185 = 1.170 \text{ mg/L}$$

Jadi nilai IC_{50} rutin 1.170 mg/L

Lampiran 9. Foto Skrining Fitokimia