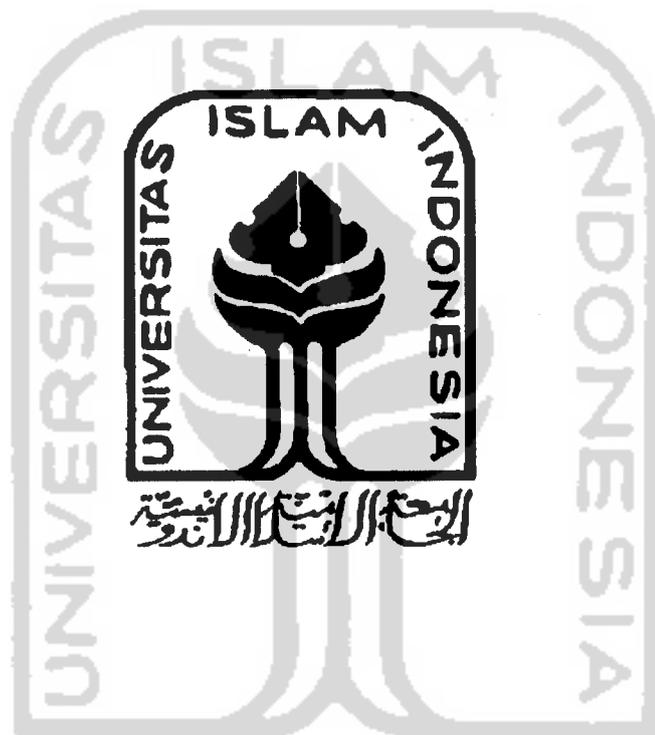


**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK
DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS 2,2-diphenyl-1-
*picrylhydrazyl***

SKRIPSI



Oleh :

EVITTA TRIAS AMELINA

03613123

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
OKTOBER 2007**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK
DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS 2,2-diphenyl-1-
picrylhydrazyl**

SKRIPSI

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

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh:

EVITTA TRIAS AMELINA

03613123

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
OKTOBER 2007**

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK
DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS 2,2-diphenyl-1-
picrylhydrazyl**

Yang diajukan oleh :

EVITTA TRIAS AMELINA

03613123

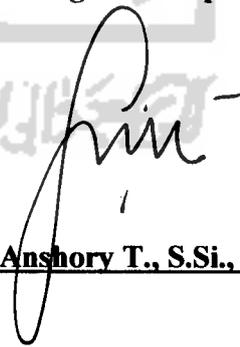
Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dra. Suparmi, M.Si., Apt.



Hady Anshory T., S.Si., Apt.

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK
DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS 2,2-diphenyl-1-
*picrylhydrazyl***

Oleh :

EVITTA TRIAS AMELINA

03613123

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 20 September 2007

Ketua Penguji,



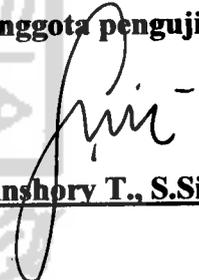
Dra. Suparmi, M.Si., Apt.

Anggota penguji,



Prof. Dr. Sudibyo Martono, M.S., Apt.

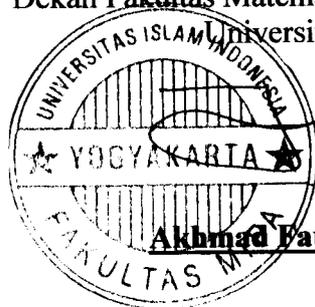
Anggota penguji,



Hady Anshory T., S.Si., Apt.

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

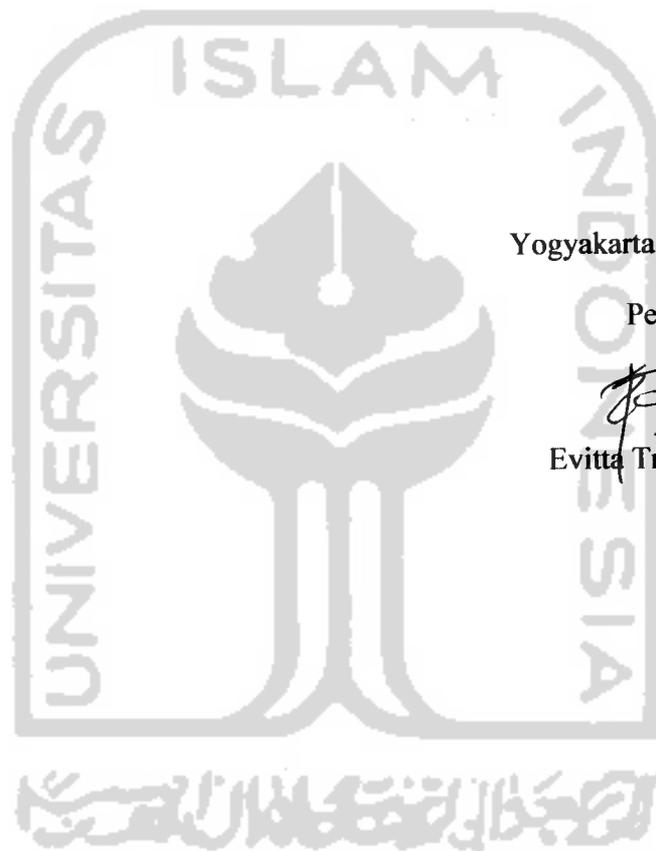


Akhdad Fauzy, S.Si., M.Si., Ph.D.



PERNYATAAN

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



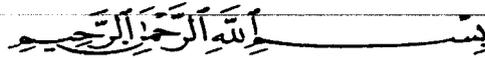
Yogyakarta, Oktober 2007

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Evitta Trias Amelina', written over a horizontal line.

Evitta Trias Amelina

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur senantiasa kita tujukan kehadirat Allah SWT, atas segala karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Terhadap Peredaman Radikal Bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl”**.

Skripsi ini merupakan laporan hasil penelitian yang dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan kepada:

1. Akhmad Fauzy, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Yandi Syukri, M.Si., Apt. selaku Ketua Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia.
3. Dra. Suparmi, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan masukan, bimbingan dan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Hady Anshory T., S.Si., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan dan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Prof. Dr. Sudibyo Martono, M.S., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan kontribusi yang berguna bagi skripsi ini.
6. Papah, Mamah, dan kakak-kakakku tercinta yang tak henti-hentinya memberikan doa dan dukungan kepada penulis.

7. Mas Hartanto, Mas Kus, Pak Riyanto sebagai laboran atas fasilitas, kerjasama, bantuan, dan dukungannya yang telah diberikan selama penelitian.
8. Seluruh dosen dan karyawan FMIPA UII atas bekal ilmu pengetahuan, layanan, dan bantuan yang diberikan.
9. *Atrhopy* sebagai sebuah kesatuan yang senantiasa kokoh dan selalu bersemangat untuk menggapai masa depan.
10. Almamaterku, semoga tercapai visi dan misi yang diharapkan.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, atas kontribusinya selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca dan semua pihak sangat diharapkan demi kemajuan dan perbaikan penulisan di masa yang akan datang.

Akhir kata penulis mohon maaf dengan ketulusan hati seandainya dalam penulisan skripsi ini terdapat kesalahan. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya serta perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan pada khususnya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, Oktober 2007



Evitta Trias Amelina

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
BAB II. STUDI PUSTAKA.....	4
A. Tinjauan pustaka.....	4
1. Rambutan.....	4
2. Ekstraksi daun	7
3. Kromatografi lapis tipis.....	11
4. Uraian flavonoid	14
5. Spektrofotometri.....	18
6. Radikal bebas.....	21
7. Antioksidan.....	23
B. Landasan teori.....	26
C. Hipotesis	26
BAB III. METODE PENELITIAN.....	27
A. Bahan dan alat.....	27
B. Alur penelitian.....	27
C. Analisis hasil.....	29
BAB IV. PEMBAHASAN.....	32
A. Determinasi tanaman.....	32
B. Pembuatan simplisia.....	32

C. Ekstraksi serbuk daun rambutan.....	33
D. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun rambutan dengan metode KLT.....	34
E. Uji aktivitas antioksidan.....	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
A. Kesimpulan.....	42
B. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	46



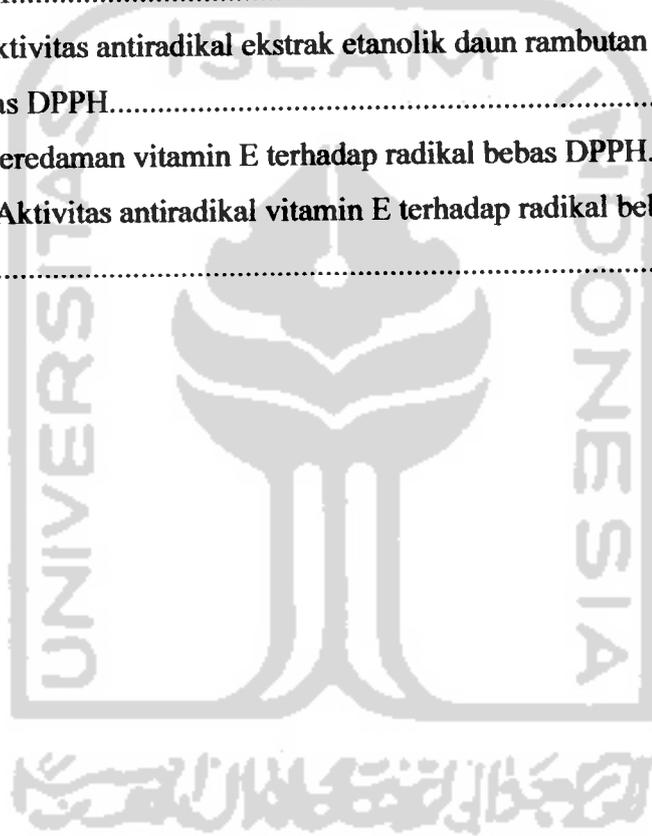
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambar 1. Rambutan.....	4
2. Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid.....	14
3. Gambar 3. Penggolongan atau tipe-tipe flavonoid.....	15
4. Gambar 4. Uji flavonoid dengan pereaksi alumunium klorida.....	17
5. Gambar 5. Struktur DPPH.....	23
6. Gambar 6. Struktur Vitamin E.....	25
7. Gambar 7. Hasil kromatogram ekstrak dan pembanding flavonoid.....	35
8. Gambar 8. Kurva perbandingan persen peredaman antara ekstrak etanolik daun rambutan terhadap vitamin E	40
9. Gambar 9. Reaksi peredaman suatu flavonoid dengan radikal bebas DPPH.....	41



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tabel I. Kandungan gizi buah rambutan dalam 100 g.....	7
2. Tabel II. Reaksi warna flavonoid.....	12
3. Tabel III. Hasil pembacaan warna bercak KLT ekstrak.....	35
4. Tabel IV. Hasil pembacaan warna bercak KLT pembanding (rutin).....	35
5. Tabel V. Peredaman ekstrak etanolik daun rambutan terhadap radikal bebas DPPH.....	37
6. Tabel VI. Aktivitas antiradikal ekstrak etanolik daun rambutan terhadap radikal bebas DPPH.....	38
7. Tabel VII. Peredaman vitamin E terhadap radikal bebas DPPH.....	38
8. Tabel VIII. Aktivitas antiradikal vitamin E terhadap radikal bebas DPPH	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Lampiran 1. Pohon rambutan	46
2. Lampiran 2. Surat keterangan determinasi.....	47
3. Lampiran 3. Alat soklet (i) dan hasil kromatogram ekstrak dengan metode KLT (ii).....	48
4. Lampiran 4. Larutan DPPH (i) dan larutan DPPH yang sudah teredam oleh antioksidan (ii)	49
5. Lampiran 5. Analisis Oneway Anova ekstrak.....	50
6. Lampiran 6. Analisis Oneway Anova vitamin E.....	52
7. Lampiran 7. Analisis Paired Sample T-Test.....	54
8. Lampiran 8. Lamda maksimum larutan DPPH 0,08 mM dalam etanol.....	55
9. Lampiran 9. Absorbansi ekstrak etanolik daun rambutan.....	57
10. Lampiran 10. Absorbansi vitamin E	59
11. Lampiran 11. Pembuatan dan penetapan λ maksimum larutan standar DPPH	61
12. Lampiran 12. Perhitungan ekstrak etanolik daun rambutan.....	62
13. Lampiran 13. Perhitungan vitamin E	64
14. Lampiran 14. Perhitungan persen peredaman dan harga ES_{50} ekstrak etanolik daun rambutan dengan pembanding vitamin E	66

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK
DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS 2,2-diphenyl-1-
picrylhydrazyl**

INTISARI

Rambutan adalah salah satu tanaman yang mudah dijumpai di lingkungan sekitar dan sering digunakan oleh masyarakat sebagai makanan pelengkap dan juga untuk keperluan pengobatan. Daun rambutan diketahui mengandung beberapa senyawa aktif antara lain flavonoid. Beberapa flavonoid dari tanaman diketahui mempunyai efek anti radikal bebas atau antioksidan. Berdasarkan hal tersebut maka sangat menarik dilakukan pengkajian kemampuan antioksidan ekstrak etanolik daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Penentuan aktivitas antioksidan ini ditinjau dari kapasitas peredaman terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) pada spektrofotometer UV-Vis. Seri konsentrasi ekstrak dan vitamin E (α -tokoferol) yang digunakan adalah 1, 3, 5, 7, dan 9 $\mu\text{g/ml}$. Peningkatan konsentrasi ekstrak dan vitamin E menyebabkan semakin besar peredaman radikal bebas DPPH. Besarnya peredaman radikal bebas DPPH dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang diamati pada λ 516,5 nm. Perhitungan menggunakan persamaan regresi linier diperoleh hasil nilai ES_{50} ekstrak dan vitamin E berturut-turut adalah sebesar 3,235 $\mu\text{g/ml}$ dan 3,412 $\mu\text{g/ml}$. Dari data ini terlihat kemampuan ekstrak etanolik daun rambutan dalam meredam radikal bebas DPPH lebih besar daripada vitamin E.

Kata kunci : Rambutan, antioksidan, DPPH radikal bebas

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF
RAMBUTAN LEAF (*Nephelium lappaceum* L.) THROUGH THE
SCAVENGING FREE RADICAL 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl**

ABSTRACT

Rambutan fruits are plant which can see around us and used by people for additional food and medical use. Leaf of rambutan has been known to have some active compounds such as flavonoid. Many flavonoids from plants are known to have anti radical activity effects or antioxidants. It is very interesting to determine antioxidant activity from ethanolic extract of rambutan leaf (*Nephelium lappaceum* L.). Antioxidant activity was carried out by using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method using spectrophotometry. The extract and vitamin E (α -tocoferol) concentration was made in the final concentration 1, 3, 5, 7, dan 9 $\mu\text{g/ml}$ respectively. The increasing of concentration extract and vitamin E has caused the scavenging of DPPH radical. The amount of free radical scavenging was calculated based on its absorbance, measured at λ 516.5 nm. From linier regression the results show that ES_{50} extract and vitamin E sequence 3.235 $\mu\text{g/ml}$ and 3.412 $\mu\text{g/ml}$, the result showed that anti radical activity of ethanolic extract of rambutan leaf is higher than vitamin E.

Keywords : Rambutan, antioxidant, free radical DPPH

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Saat ini kelebihan gizi yang mengakibatkan tingginya prevalensi penyakit degeneratif seperti jantung, kanker, kencing manis, reumatik sudah dirasakan sampai di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Belum lagi akibat yang ditimbulkan oleh lingkungan tercemar, kesalahan pola makan dan gaya hidup yang justru merangsang munculnya radikal bebas (*free radical*) yang merusak tubuh kita (Anonim, 2006).

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Radikal bebas dapat ditimbulkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultraviolet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas bersifat kronis, yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata (Anonim, 2006).

Radikal bebas dapat menginduksi penyakit kanker, aterosklerosis dan penuaan yang disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi sehingga diperlukan suatu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Kikuzaki *et al.*, 2002).

Radikal bebas yang mengambil elektron dari sel tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbul sel-sel mutan. Bila perubahan DNA ini terjadi bertahun-tahun, maka dapat menjadi penyakit kanker. Tubuh manusia, sesungguhnya dapat menghasilkan antioksidan tetapi jumlahnya sering sekali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Atau sering sekali, zat pemicu yang diperlukan oleh tubuh untuk menghasilkan antioksidan tidak cukup dikonsumsi. Sebagai contoh, tubuh manusia dapat menghasilkan glutathione, salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya saja, tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 1.000 mg untuk memicu tubuh menghasilkan

glutation ini. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan stres oksidatif dan penyakit-penyakit kronis yang dihasilkannya (Anonim, 2006).

Antioksidan sebenarnya didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Tetapi mengenai radikal bebas yang berkaitan dengan penyakit, akan lebih sesuai jika antioksidan didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif (Sofia, 2003).

Selain berbentuk zat gizi seperti vitamin C dan D, antioksidan dapat pula berupa zat non-gizi seperti pigmen (karoten, likopen, flavonoid, klorofil) dan enzim (glutation peroksida, koenzim, Q-10 atau ubiquinon). Karoten banyak pada wortel, ubi rambat, semangka, bayam, kangkung, jeruk dan likopen pada tomat. Flavonoid pada wortel, jeruk, brokoli, kol, mentimun, bayam, tomat, merica, terung (Anonim, 2006).

Senyawa-senyawa yang mengandung gugus fenol seperti vitamin E dan flavonoid yang terdapat pada tanaman dan mengandung banyak polifenol, mampu berfungsi sebagai antioksidan primer (Pokorni *et al.*, 2001). Flavonoid dapat berperan sebagai penangkap (*scavenger*) anion superoksida dan radikal hidroksi. Flavonoid dapat mendonorkan atom hidrogen ke radikal peroksi membentuk radikal flavonoid yang mudah bereaksi dengan radikal bebas sehingga reaksi radikal rantai berhenti (*terminasi*) (Pedricelli *et al.*, 2001).

Rambutan adalah salah satu tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan. Buah mengandung karbohidrat, protein, lemak, fosfor, besi, kalsium dan vitamin C. Kulit buah mengandung tanin dan saponin. Biji mengandung lemak dan polifenol. Kulit batang mengandung tanin, saponin, flavonoida, *peptic substances*, dan zat besi. Daun mengandung tanin dan saponin (Dalimartha, 2003). Tanaman yang mengandung flavonoid telah diketahui mempunyai efek antiradikal bebas atau antioksidan (Buhler and Miranda, 2003). Berdasarkan hal tersebut maka sangat menarik dilakukan pengkajian kemampuan antioksidan ekstrak daun rambutan

(*Nephelii lappacei folium*) secara *in vitro* ditinjau dari kapasitas peredaman terhadap radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan pembandingan vitamin E (α -tokoferol) secara spektrofotometri UV-vis.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanolik daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) mempunyai aktivitas antioksidan ditinjau dari kapasitas peredaman radikal bebas DPPH?
2. Berapakah nilai *effective scavenging* 50 (ES₅₀) dari ekstrak etanolik daun rambutan dan vitamin E?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan pembandingan vitamin E (α -tokoferol) secara spektrofotometri UV-Vis ditinjau dari kapasitas peredaman radikal bebas DPPH.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Taksonomi tanaman rambutan

Dalam taksonomi rambutan diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Family	: Sapindaceae
Genus	: <i>Nephelium</i>
Spesies	: <i>Nephelium lappaceum</i>



(Anonim, 2006).

Gambar 1 menunjukkan bentuk tanaman dan buah rambutan:



Gambar 1. Rambutan (Zee, 1995)

Sinonim :

English : rambutan

Spanish : rambutan (ramustan)

French : ramboutan, litchi chevelu

German : rambutan

Philippines: rambutan, usan

Cambodia : saaw maaw, ser mon

Thailand : ngoh, phruan

Vietnam : chom chom, vai thieu

China : Shao tzu (Anonim, 2003).

Nama daerah:

Sumatera: rambutan, rambot, rambut, rambut, rambuteun, rambuta, jailan, folui, bairabit, puru biancak, p.biawak, hahujam, kakapas, likis, takujung alu.

Jawa: rambutan, corogol, tundun, bunglon, buwa buluwan.

Nusa Tenggara: buluan, rambuta.

Kalimantan: Rambutan, siban, banamon, beriti, sanggalaong, sagalong, beliti, maliti, kayokan, bengayau, puson.

Sulawesi: rambutan, rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wayatu, wilatu, wulangas, lelamu, lelamun, toleang.

Maluku: rambutan, rambuta (Dalimartha, 2003).

Nama Simplisia:

Nephelii lappacei semen (biji rambutan), *Nephelii lappacei pericarpium* (kulit buah rambutan) (Dalimartha, 2003).

a. Uraian Tumbuhan

Tanaman rambutan banyak ditanam sebagai pohon buah, kadang-kadang ditemukan tumbuh liar. Tumbuhan tropis ini memerlukan iklim lembab dengan curah hujan tahunan paling sedikit 2.000 mm. Rambutan merupakan tanaman dataran rendah, hingga ketinggian 300-600 m dpl (Dalimartha, 2003).

Pohon dengan tinggi 15-25 m ini mempunyai banyak cabang. Daun majemuk menyirip letaknya berseling, dengan anak daun 2-4 pasang. Helaian anak daun bulat lonjong, panjang 7,5-20 cm, lebar 3,5-8,5 cm, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, tangkai silindris, warnanya hijau, kerap kali mengering. Bunga tersusun pada tandan di ujung ranting, harum, kecil-kecil, warnanya hijau muda. Bunga jantan dan bunga betina tumbuh terpisah dalam satu pohon. Buah bentuknya

bulat lonjong, panjang 4-5 cm, dengan duri tempel yang bengkok, lemas sampai kaku. Kulit buahnya berwarna hijau, dan menjadi kuning atau merah kalau sudah masak. Dinding buah tebal. Biji bentuk elips, terbungkus daging buah berwarna putih transparan yang dapat dimakan dan banyak mengandung air, rasanya bervariasi dari masam sampai manis. Kulit biji tipis berkayu (Dalimartha, 2003).

Rambutan berbunga pada akhir musim kemarau dan membentuk buah pada musim hujan, sekitar November sampai Februari. Ada banyak jenis rambutan, seperti ropiah, simacam, sinyonya, lebak bulus dan binjei. Perbanyakkan dengan biji, tempelan tunas, atau dicangkok (Dalimartha, 2003).

b. Sifat dan Khasiat

Kulit buah berkhasiat sebagai penurun panas. Bijinya berkhasiat menurunkan kadar gula darah (hipoglikemik). Daun berkhasiat untuk mengobati diare, juga untuk menghitamkan rambut (Dalimartha, 2003).

c. Kandungan Kimia.

Buah mengandung karbohidrat, protein, lemak, fosfor, besi, kalsium, dan vitamin C. Kulit buah mengandung tanin dan saponin. Biji mengandung lemak dan polifenol. Daun mengandung tanin dan saponin. Kulit batang mengandung tanin, saponin, flavonoida, *pectic substances*, dan zat besi (Dalimartha, 2003). Dalam 100 g sampel buah rambutan terdiri dari 82,1% air, 0,9% protein, 0,3% lemak, 0,3% *ash*, 2,8 g glukosa, 3,0 g fruktosa, 9,9 g sukrosa, tanpa *starch*, 2,8 g serat, 0,05% *malic acid*, 0,31% asam sitrat, 0,5 mg niacin, 15 mg kalsium, 0,1 sampai 2,5 mg zat besi, 70 mg vitamin C, 0,01 mg *thiamine*, 0,07 mg riboflavin, 140 mg potasium, 2 mg sodium dan 10 mg magnesium. Biji rambutan pahit, mungkin bisa beracun karena adanya saponin. Sekitar 37% dari berat kering biji adalah lemak, yang terdiri dari asam lemak *arachidic* (34,7%), *oleic* (45,3%), *stearic* (13,8%), *ericoenoic* (4,2%) dan *palmitic* (2%), dan gliserida tersaturasi 1,4% (Zee, 1995).

Tabel 1 berikut ini menunjukkan kandungan gizi dalam 100 g buah rambutan:

Tabel 1. Kandungan gizi buah rambutan dalam 100 g (Morton, 1987)

Kandungan dalam 100 g	
Moisture	82,3 g
Protein	0,46 g
Total Carbohydrates	16,02 g
Reducing Sugars	2,9 g
Sucrose	5,8 g
Fiber	0,24g
Calcium	10,6 mg
Phosphorus	12,9 mg
Ascorbic Acid	30 mg

d. Bagian yang Digunakan

Bagian tanaman yang digunakan adalah kulit buah, kulit kayu, daun, biji, dan akarnya (Dalimartha, 2003).

e. Indikasi

Kulit buah digunakan untuk mengatasi: disentri, demam. Daun digunakan untuk mengatasi: diare, menghitamkan rambut. Kulit kayu digunakan untuk mengatasi: sariawan. Akar digunakan untuk mengatasi: demam. Biji digunakan untuk mengatasi: kencing manis (diabetes melitus) (Dalimartha, 2003).

f. Cara pemakaian

Untuk obat yang diminum, tidak ada dosis rekomendasi. Lihat contoh pemakaian. Untuk pemakaian luar, giling daun sampai halus, lalu tambahkan sedikit air perasannya untuk menghitamkan rambut yang beruban (Dalimartha, 2003).

2. Ekstraksi Daun

a. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Anonim,

1979). Definisi lain menyatakan bahwa ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 1995).

b. Metode penyarian

Penyarian merupakan peristiwa perubahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut di dalam penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas (Anonim, 1986).

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut ini :

- (1) Murah dan mudah diperoleh
- (2) Stabil secara fisika dan kimia
- (3) Bereaksi netral
- (4) Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar
- (5) Selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki
- (6) Tidak mempengaruhi zat berkhasiat
- (7) Diperbolehkan oleh peraturan (Anonim, 1986).

Beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan antara lain: maserasi, infundasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan (Anonim, 2000).

1. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umum digunakan untuk menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh jamur dan kapang. Oleh sebab itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Anonim, 1986).

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Campuran simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci dengan air secukupnya, panaskan di atas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sekali-kali diaduk. Serkai selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki (jika tidak dikatakan lain, dibuat infusa 10%) (Anonim, 2000).

2. Metode maserasi

Istilah *maceration* berasal dari bahasa latin *mascerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses paling tepat yaitu obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam *menstrum* (pelarut) sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Untuk obat-obat yang mengandung sedikit atau tidak sama sekali bahan seperti benzoe, aloe, tolu, dan stiraks yang hampir seluruhnya melarut dalam *menstrum*, maserasi merupakan metode yang paling baik untuk ekstraksi. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan yang larut melarut (Ansel, 1989).

3. Perkolasi

Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *percolare*, *per* yang artinya "melalui" dan *colare* yang artinya "merembes" (Ansel, 1989). Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain : gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adhesi, daya kapiler, dan daya geseran (friksi) (Anonim, 1986).

4. Penyarian berkesinambungan

Pada penelitian ini metode pembuatan ekstrak yang digunakan adalah soxhletasi. Soxhlet merupakan alat ekstraksi dengan penyarian berkesinambungan.

Soxhletasi menggabungkan dua proses (Anonim, 1986). Bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas, karton, dan sebagainya) dibagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkolator). Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan diantara labu penyulingan dengan pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap dan mencapai kedalaman pendingin aliran balik melalui pipet, berkondensasi di dalamnya, menetes mengenai bahan yang diekstraksi dan menarik keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimalnya, secara otomatis dipindahkan ke dalam labu. Dengan demikian, zat yang terekstraksi terakumulasi melalui penguapan bahan pelarut dalam jumlah kecil, juga simplisia selalu baru artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif berlangsung secara terus menerus (pembaharuan pendekatan konsentrasi secara kontinyu).

Keuntungan ekstraksi dengan soxhlet adalah cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat. Serbuk simplisia disari oleh cairan penyari yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak. Penyarian dapat diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari (Anonim, 1986). Keburukannya adalah waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi cukup lama (sampai beberapa jam) sehingga kebutuhan energinya tinggi (listrik, gas). Selanjutnya simplisia di bagian tengah alat pemanas langsung berhubungan dengan labu, dimana bahan pelarut menguap. Pemanasan bergantung pada lamanya ekstraksi, khususnya dari titik didih bahan pelarut yang digunakan, dapat berpengaruh negatif terhadap bahan tumbuhan yang peka suhu (glikosida, alkaloid). Demikian pula, bahan terekstraksi yang terakumulasi dalam labu mengalami beban panas dalam waktu yang lama. Meskipun cara soxhlet sering digunakan dalam laboratorium penelitian untuk mengekstraksi tumbuhan, namun peranannya dalam pembuatan obat dari tumbuhan kecil artinya (Voight, 1984).

3. Kromatografi Lapis Tipis

a. Pengantar

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu dari prosedur kromatografi dengan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir yang disebut fase diam, ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita pada plat tersebut, kemudian dimasukkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang terdiri satu atau beberapa pelarut yang akan bergerak dalam fase diam oleh adanya gaya kapiler. Pemisahan senyawa terjadi selama proses pengembangan (Stahl, 1985).

b. Fase Diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT adalah bahan penyerap (adsorpsi). Sifat umum dari kromatografi lapis tipis ini mirip dengan sifat penyerap kromatografi kolom. Dua sifat yang penting dari penyerap ini adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada kedua sifat tersebut. Penyerap yang umum adalah silika gel, aluminium oksida, kiesel guhr, selulosa dan turunannya, poliamida dan lain-lain. Selain itu, yang harus diingat bahwa penyerap seperti aluminium oksida dan silika gel mempunyai kadar air yang sangat berpengaruh nyata terhadap daya pemisahannya (Stahl, 1985).

c. Fase Gerak

Pemilihan fase gerak baik tunggal maupun campuran tergantung pada zat terlarut yang dianalisis dan fase diam yang digunakan. Pelarut yang digunakan harus murni dan mudah didapatkan, mudah diuapkan agar tidak selalu dalam lapisan lempeng. Mantap diudara mudah tercampur dengan pelarut lain, tidak toksik, mudah dipisahkan dari zat terlarut untuk pemurnian. Bila fase gerak sulit dipisahkan dari zat terlarut akan mengganggu dalam analisis selanjutnya seperti analisis spektroskopi.

Dalam analisis kualitatif untuk elusidasi atau penyandraan struktur kimia diperlukan kemurnian yang tinggi (Sumarno, 2000).

d. Deteksi Bercak

Identifikasi bercak pada senyawa kromatogram dapat dilakukan dengan tiga cara:

- (1) Bercak langsung dilihat pada sinar tampak atau ultraviolet
- (2) Bercak terlebih dahulu disemprot atau diuapi dengan pereaksi tertentu, kemudian dilihat pada sinar tampak atau ultraviolet
- (3) Bercak dikerok terlebih dahulu, lalu diidentifikasi dengan beberapa cara, misalnya dengan ditambah pereaksi tertentu dalam tabung reaksi dan menentukan panjang gelombang maksimum.

Tabel II berikut menunjukkan golongan flavonoid berdasarkan perubahan warna setelah penambahan pereaksi.

Tabel II. Reaksi warna flavonoid (Venkataraman, 1962).

Golongan flavonoid	Larutan NaOH	Asam sulfat pekat	Magnesium/asam klorida	Natrium amalgam
Khalkon	jingga-merah	jingga-merah	tak berwarna	kuning pucat
Dihidrokhalkon	tak berwarna	tak berwarna kuning	tak berwarna	tak berwarna
Auron	merah/violet	merah/violet	tak berwarna	kuning pucat
flavanon	kuning/jingga dipanaskan merah	jingga	merah/violet atau biru	merah
flavon	Kuning	kuning/jingga berpendar	merah/violet	kuning/merah
flavonolol	Kuning berubah coklat	kuning/merah	merah/violet	kuning/coklat
Leukoantosianin	Kuning	merah/violet	violet	violet
Antosianin/antosianidin	biru/violet	kuning/jingga	merah lalu memucat	kuning/jingga
Isoflavon	Kuning	kuning	kuning	merah muda/violet
Isoflavonon	Kuning	kuning	tak berwarna	merah

e. Identifikasi dan nilai Rf

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf atau hRf, yang mana :

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

Angka Rf berada antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan oleh dua desimal, hRf adalah angka Rf dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjarak 0 sampai 100 (Stahl, 1985). Nilai Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai-nilai standar. Perlu diperhatikan bahwa nilai Rf yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi harga Rf :

- (1) Struktur kimia dari senyawa yang digunakan
- (2) Sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya
- (3) Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap
- (4) Pelarut dan derajat kemurnian fase gerak
- (5) Derajat kejenuhan uap dalam bejana pengembangan yang digunakan
- (6) Teknik percobaan
- (7) Jumlah cuplikan yang digunakan
- (8) Suhu
- (9) Keseimbangan



(Sastrohamidjojo, 2001a)

f. Keuntungan dan Kelemahan KLT

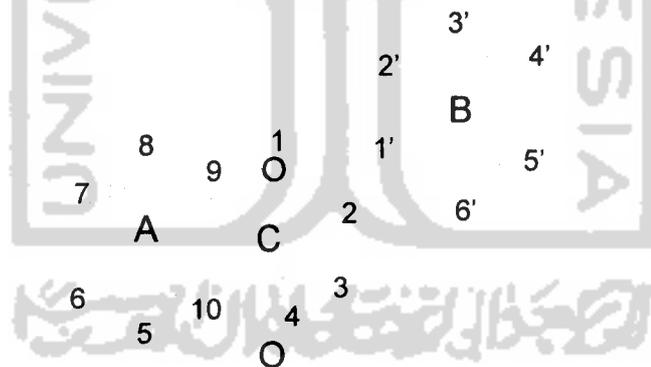
Bila dibandingkan dengan kromatografi kertas, metode kromatografi lapis tipis mempunyai keuntungan yang utama, yaitu membutuhkan waktu yang lebih cepat dan diperoleh pemisahan yang lebih baik. Waktu rata-rata untuk KLT dengan panjang 10 cm pada silika gel adalah sekitar 20-30 menit (tergantung dari sifat fase gerak), sedangkan pemisahan yang sama dengan kertas yang memerlukan waktu 2 jam. Hasil pemisahan yang baik dikarenakan penyerap dalam kromatografi lapis tipis mempunyai kapasitas yang lebih besar bila dibandingkan dengan kromatografi kertas

(Sastrohamidjojo, 2001a). Salah satu kekurangan kromatografi lapis tipis ini adalah waktu yang diperlukan untuk menganalisis lama, sehingga kurang efisien.

4. Uraian flavonoid

a. Pengertian dan Kerangka Dasar Flavonoid

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga dan *hornwort* terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nectar, bunga, buah buni dan biji. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun atas konfigurasi C₆-C₃-C₆ yakni 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan 3 karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Agar mudah, cincin diberi tanda A, B dan C. Atom karbon dinomori menurut sistem penomoran yang menggunakan angka Arab (tanpa aksen) untuk cincin A dan C, serta angka "aksen" untuk cincin B (Gambar 2) (Markham, 1988).



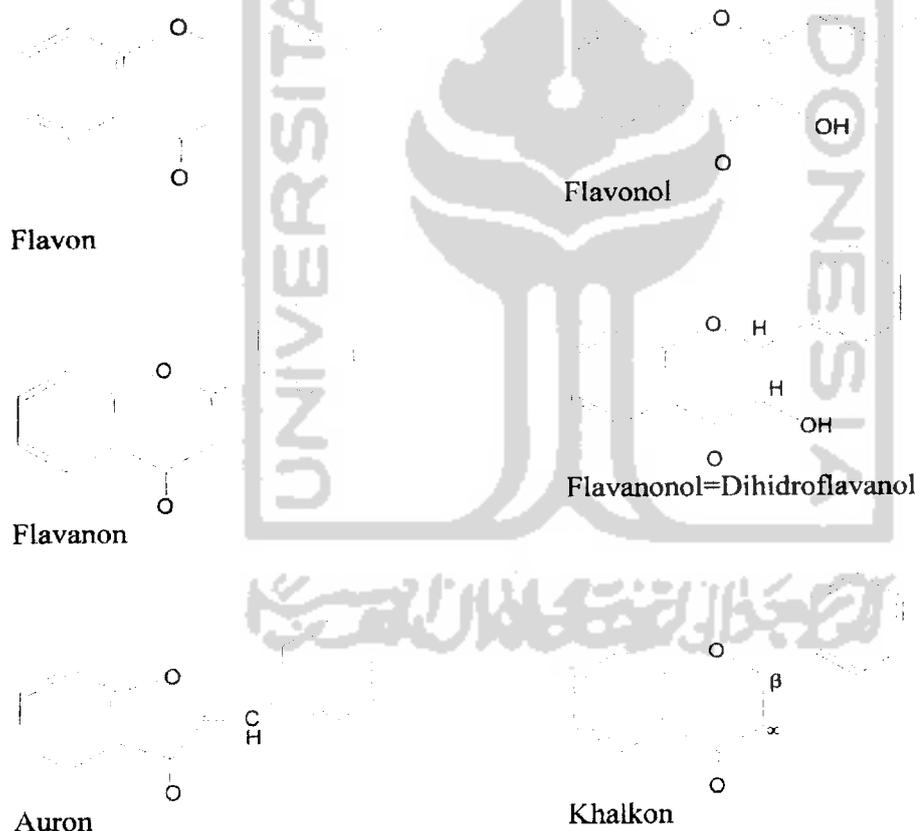
Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid (Markham, 1988).

b. Penggolongan Flavonoid

Penggolongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan pada telaah sifat kelarutan dan reaksi warna, diikuti dengan pemeriksaan ekstrak tumbuhan sebelum dan sesudah hidrolisis, secara kromatografi satu arah dan pemeriksaan ekstrak etanol secara dua arah. Akhirnya flavonoid dapat dipisahkan

dengan cara kromatografi. Komponen masing-masing diidentifikasi dengan membandingkan kromatogram dan spektrum dengan senyawa pembanding yang sudah dikenal. Senyawa baru yang ditemukan sewaktu menelaah memerlukan pemeriksaan kimia dan spektrum yang lebih rinci (Harborne, 1987).

Penggolongan flavonoid berdasarkan substituen cincin tetrasiklik yang mengandung oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil serta perbedaan oksigen di bagian C3 menentukan sifat, khasiat, golongan atau tipe flavonoid (Gambar 3). Gugus hidroksil biasanya terdapat pada cincin aromatik atau terdapat sebagai gugus metoksil atau glikosida (Robinson, 1995).



Gambar 3. Penggolongan atau tipe-tipe flavonoid (Robinson, 1995).

c. Isolasi flavonoid

Pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode kromatografi (Harborne, 1987). Kromatografi kertas adalah cara paling umum digunakan untuk analisis pendahuluan ekstrak tumbuhan untuk menguji adanya flavonoid (Markham, 1988).

Pemurnian suatu flavonoid dengan Kromatografi Kertas (KKt) 2A dilakukan apabila suatu flavonoid merupakan komponen ekstrak tanaman yang kompleks, hal ini biasanya dipisahkan dari campuran dengan memotong area KKt 2A dan mengekstraksi potongan kertas dengan metanol *pro analysis* atau 20% air dalam metanol (Mabry, 1970).

Metode kromatografi lain untuk pemisahan senyawa flavonoid adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Nilai utama KLT adalah sebagai cara analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit. Penyerap dan pengembang yang digunakan umumnya sama dengan penyerap dan pengembang yang digunakan pada kromatografi kertas dan cara mendeteksi bercak sebagian besar yang telah diikhtisarkan untuk kromatografi kertas (Markham, 1988).

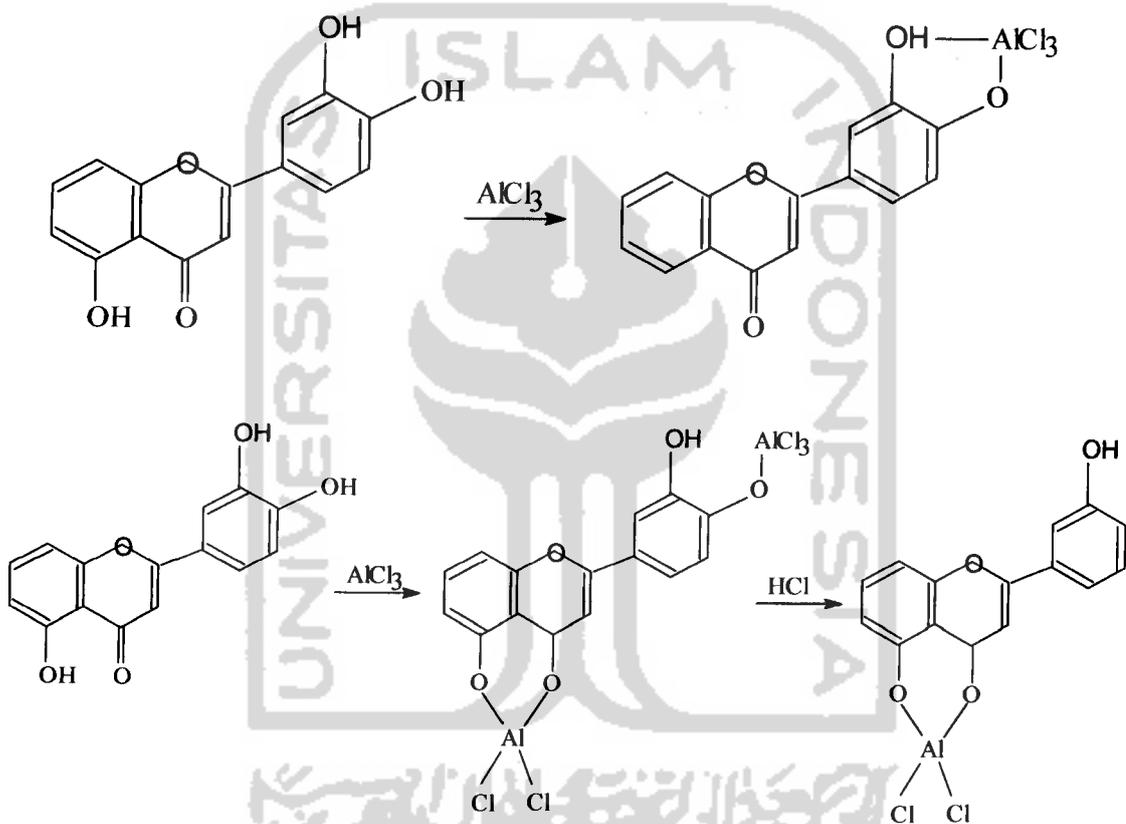
d. Karakteristik dan identifikasi senyawa flavonoid

Flavonoid adalah senyawa fenolik, bila tidak tercampur dengan pigmen lain flavonoid dapat dideteksi dengan uap amonia. Flavonoid akan memberikan warna yang spesifik untuk masing-masing golongan. Flavon, flavonol, akan memberikan warna kuning kemerahan, antosianin berwarna merah biru, flavonol memberikan warna orange atau coklat, warna merah dan warna lembayung yang terjadi mendadak karena suasana asam disebabkan adanya khalkon atau auron (Robinson, 1995).

Pemisahan flavonoid dengan kromatografi dua arah menghasilkan bercak yang dapat dilihat dengan sinar tampak, tetapi kebanyakan hanya terlihat apabila diperiksa dengan sinar UV dan kromatogram diuapi amonia akan terlihat perubahan warna yang bolak balik, banyaknya warna merupakan ciri khas flavonoid tertentu. Untuk membandingkan kromatografi dua arah dari sederetan cuplikan tumbuhan harus dilakukan dalam kondisi yang sama. Pengembangan butanol:asam asetat

glasial:air (BAW) yang dibuat segar untuk pengembangan selama semalam dan diusahakan mengendalikan suhu bejana kromatografi atau suhu kamar tempat kromatografi dilakukan (Harborne, 1987).

Uji flavonoid juga dapat dilakukan dengan pereaksi alumunium klorida membentuk kompleks yang berwarna kuning. Reaksi antara flavonoid dengan alumunium klorida dapat dilihat pada Gambar 4 berikut ini:



Gambar 4. Uji flavonoid dilakukan dengan pereaksi alumunium klorida membentuk kompleks yang berwarna kuning (Robinson, 1995).

Flavonoid membentuk warna apabila direaksikan dengan besi III klorida sebab flavonoid merupakan senyawa fenol, tetapi tidak dapat digunakan untuk membedakan bermacam-macam golongan. Jika terjadi warna hitam-biru, merupakan bukti adanya 3,4,5 trihidroksi fenol (gugus galokatekin), tetapi pembentukan warna hijau tidak berarti bahwa tidak ada golongan senyawa ini atau gugus katekol (*orto* hidroksi). Reduksi dengan magnesium dan asam klorida menghasilkan warna merah

pekat pada flavonol, flavanon, flavonol dan xanton. Falkon dan auron memberikan warna merah segera setelah penambahan asam bahkan peningkatan intensitas warna secara perlahan-lahan ketika reduksi berlangsung. Flavon menghasilkan sedikit warna tetapi intensitasnya jauh lebih rendah daripada flavonolol (Robinson, 1995).

Pemilihan pelarut tidak hanya tergantung pada kandungan zat aktif yang diselidiki, tetapi juga tergantung pada bagaimana substansi tersebut diambil dan sifat substansi lain yang terdapat pada bagian tumbuhan. Bila flavonoid terdapat dalam vakuola sel, umumnya bersifat hidrofilik, maka penyarian dilakukan menggunakan air maupun pelarut alkoholik. Bila flavonoid berada dalam kloroplas, digunakan pelarut-pelarut nonpolar sebelum melakukan penyarian dengan alkohol (Goodwin, 1962).

Ekstraksi awal dengan petroleum eter atau heksan sering dilakukan untuk membebaskan bahan tanaman dari sterol, karotin dan klorofil. Jika flavonoid yang diisolasi berupa glikosida perlu dilakukan hidrolisis untuk mendapatkan senyawa aglikonnya. Hidrolisis dilakukan dengan merefluks glikosida flavonoid dengan asam klorida 2 M (Goodwin, 1962).

Aglikon flavonoid secara umum larut dalam eter, sedangkan glikosidanya dapat larut dalam etil asetat. Glikosida yang mengikat lebih dari satu molekul gula akan larut dalam campuran air dan alkohol (Goodwin, 1962).

5. Spektrofotometri

a. Pengantar

Spektroskopi serapan ultraviolet dan sinar tampak biasanya merupakan salah satu cara yang digunakan untuk menganalisis flavonoid. Cara tersebut digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Di samping itu, kedudukan gugus hidroksi fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi (pereaksi geser) ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Dengan demikian, secara tidak langsung cara ini berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksi fenol (Markham, 1988).

Keuntungan cara ini adalah jumlah flavonoid yang diperlukan untuk analisis lengkap sangat sedikit (biasanya sekitar 0,1 mg). Dalam praktek hanya sedikit peneliti yang dengan saksama menimbang cuplikan yang digunakan. Mereka lebih suka membuat larutan persediaan yang mengandung kira-kira 0,1 mg cuplikan dalam 10 ml metanol, lalu diencerkan sampai diperoleh tingkat serapan (daya serap) puncak utama di sekitar 0,6. Selanjutnya, larutan persediaan tersebut digunakan untuk semua pengukuran berikutnya (Markham, 1988).

Flavonoid yang sudah dikenal dianalisis secara kuantitatif dengan memakai persamaan yang dikenal dengan nama hukum Beer-Lambert:

$$\text{Persamaan Beer-Lambert: } A = \epsilon c d$$

Dalam persamaan ini A = daya serap atau keserapan (dibaca pada spektrofotometer) ϵ = kesemerapan atau absorbtivitas mol yang dahulu disebut koefisien ekstingsi molar, c = konsentrasi flavonoid dinyatakan dalam mol (gram/BM) per liter, dan d = panjang sel (cm). Jadi banyaknya flavonoid dalam larutan dapat diketahui bila kesemerapan mol diketahui. Himpunan kesemerapan mol yang baik telah dipublikasikan oleh Jurd (1962), tetapi apabila kesemerapan yang diperlukan tidak ada di sini, dapat dihitung dengan mengukur keserapan larutan flavonoid yang sedang ditelaah (didapat dari sumber lain) yang konsentrasinya diketahui (Markham, 1988).

b. Instrumentasi

Instrumen yang digunakan untuk analisis mempunyai komponen-komponen pokok diantaranya :

1. Sumber tenaga radiasi

Sumber tenaga radiasi terdiri dari benda yang tereksitasi hingga ke tingkat tenaga yang tinggi karena adanya sumber listrik bertegangan tinggi atau pemanasan listrik. Benda atau materi yang kembali ke tingkat tenaga yang lebih rendah atau ketingkat dasarnya, melepaskan foton dengan tenaga-tenaga yang karakteristik yang sesuai dengan ΔE , yaitu perbedaan tenaga antara tingkat tereksitasi dan tingkat dasar rendah (Sastrohamidjojo, 2001b).

Sumber radiasi ultraviolet yang biasanya digunakan adalah lampu hidrogen dan lampu deuterium. Elektron-elektron yang kembali ke tingkat dasar akan melepaskan radiasi yang kontinu dalam daerah sekitar 180 nm dan 350 nm. Sumber radiasi terlihat dan radiasi inframerah dekat yang biasa digunakan adalah lampu filamen tungsten. Filamen dipanaskan oleh sumber arus DC yang menghasilkan radiasi secara kontinu pada daerah antara 350 nm dan 2500 nm (Sastrohamidjojo, 2001b).

2. Monokromator

Dalam spektrometer, radiasi yang polikromatik harus dirubah menjadi radiasi monokromatik. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif atau panjang gelombang tunggalnya dan memisahkan panjang-panjang gelombang tersebut menjadi jalur-jalur yang sempit (Sastrohamidjojo, 2001b).

3. Tempat cuplikan

Cuplikan yang akan dipelajari pada daerah ultraviolet atau terlihat yang biasanya berupa larutan ditempatkan dalam sel atau kuvet. Untuk daerah ultraviolet biasanya digunakan quartz atau sel dari sel silika yang dilebur, sedangkan untuk daerah terlihat digunakan gelas biasa atau quartz. Sebelum sel dipakai harus dibersihkan dengan air, atau jika dikehendaki dapat dicuci dengan larutan detergen atau asam nitrat panas (Sastrohamidjojo, 2001b).

Pelarut-pelarut yang digunakan dalam spektrofotometri harus bisa melarutkan cuplikan, meneruskan radiasi dalam daerah panjang gelombang yang sedang dipelajari. Beberapa pelarut yang biasa digunakan dalam daerah-daerah ultraviolet atau terlihat adalah seperti : aseton, benzen, karbon tetraklorida, kloroform, dioksan, diklorometan, 95% etanol, dietil eter, metanol, air dan sebagainya. Larutan selalu dibuat dengan cermat, larutan standar dibuat dalam labu ukur, konsentrasi biasanya sekitar 0,1 % untuk pekerjaan yang memerlukan ketelitian semua gelas-gelas standar dan sebagainya harus mempunyai kualitas analisis yang

tinggi, dan jika pengenceran dilakukan harus dikerjakan dalam volume yang dapat diukur dengan teliti, karena perbedaan volume yang sangat kecil akan dapat menyebabkan kesalahan (Sastrohamidjojo, 2001b).

4. Detektor

Setiap detektor menyerap tenaga foton yang mengenainya dan merubah tenaga tersebut untuk dapat diukur secara kuantitatif. Kebanyakan detektor menghasilkan sinyal listrik yang dapat mengaktifkan meter atau pencatat. Setiap pencatat harus menghasilkan sinyal yang secara kuantitatif berkaitan dengan tenaga cahaya yang mengenainya (Sastrohamidjojo, 2001b).

6. Radikal Bebas

a. Pengantar

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya sangat tidak stabil (mempunyai satu elektron atau lebih yang tanpa pasangan), sehingga untuk memperoleh pasangan elektron senyawa ini sangat reaktif dan merusak jaringan. Karena secara kimia molekulnya tidak lengkap, radikal bebas cenderung "mencuri" partikel dari molekul lain, yang kemudian menimbulkan senyawa tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh (Anonim, 2006).

Perusakan sel oleh radikal bebas reaktif didahului oleh kerusakan membran sel dengan terjadi rangkaian proses sebagai berikut:

- a. Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen-komponen membran (enzim-enzim membran, komponen karbohidrat, membran plasma), sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi reseptor.
- b. Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transfer lintas membran terganggu.
- c. Reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk. Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain dengan

mengubah fluiditas, *cross-linking*, struktur dan fungsi membran; dalam keadaan yang lebih ekstrim akhirnya dapat menyebabkan kerusakan sel (Gitawati, 1995).

Molekul radikal bebas dapat berbentuk senyawa organik atau anorganik dan dapat merupakan produk intermediet dari metabolisme normal. Selain itu dapat juga terbentuk akibat radiasi obat-obat (seperti adriamisin dan daunorefin) atau xenobiotik, polutan udara, pestisida, rokok, pelarut anestetikum, hidrokarbon aromatik dan sebagainya. Di dalam sel hidup, radikal bebas terbentuk di membran plasma, mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasmik dan sitosol melalui reaksi-reaksi enzimatik yang normal berlangsung dalam metabolisme. Radikal bebas dapat bermuatan positif, negatif atau tidak bermuatan (Suyatna, 1989; Gitawati, 1995).

Senyawa-senyawa maupun reaksi kimia yang cenderung menghasilkan spesies oksigen reaktif (spesies oksidan yang potensial toksik) disebut prooksidan (Lautan, 1997). Tipe radikal bebas turunan oksigen reaktif sangat signifikan dalam tubuh.

Oksigen reaktif ini antara lain :

- (1) Radikal bebas superoksida (O^{\bullet})
 - (2) Radikal bebas hidroksi (OH^{\bullet})
 - (3) Radikal bebas alkoksi (RO^{\bullet})
 - (4) Radikal bebas peroksi (ROO^{\bullet})
 - (5) Peroksida lipid (LOOH)
 - (6) Hidrogen peroksida (H_2O_2)
 - (7) Ion hipoklorit ($^{\ominus}OCl$)
- (Sofia, 2003)

b. DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

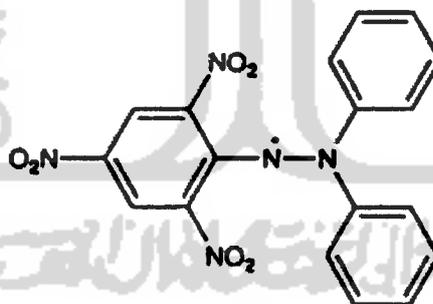
DPPH adalah suatu radikal organik nitrogen stabil, mudah disiapkan dan banyak tersedia di pasaran, merupakan senyawa yang cocok digunakan sebagai model senyawa radikal. DPPH merupakan senyawa berwarna ungu, dan apabila bereaksi dengan senyawa peredam radikal bebas akan berubah intensitas warnanya. Kemampuannya dapat dievaluasi dengan *electron spin resonance* (ESR) atau adanya

penurunan absorbansinya, terutama pada 515 nm, reaksinya diamati pada spektrofotometer (Prior *et al.*, 2005).

Persen penurunan proporsional kepada konsentrasi antioksidan dan konsentrasi yang menyebabkan penurunan konsentrasi DPPH sebesar 50 % disebut EC_{50} . Pengujian DPPH terutama berdasarkan reaksi ET (*electron transision*) dan hidrogen *atom abstraction* adalah salah satu jalur lainnya (Huang *et al.*, 2005).

Keuntungan ataupun kerugian pengujian DPPH antara lain tes yang akan dikerjakan cepat dan sederhana dibanding metode lainnya, untuk pembacaan hasilnya hanya menggunakan UV-vis spektrofotometer. Tetapi interpretasinya agak susah apabila pada pengujian ada komponen yang mempunyai spektrum yang tumpang tindih dengan DPPH pada 515 nm. Khususnya karotenoid akan mempengaruhi pembacaan pada spektrofotometer (Huang *et al.*, 2005).

DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*) atau $C_{18}H_{12}N_5O_6$ memiliki BM: 394,3. Sifat-sifat DPPH yaitu merupakan kristal violet larut dalam benzen, agak larut dalam petroleum eter dan alkohol (Jonas *et al.*, 1974). Gambar 5 berikut ini menunjukkan struktur DPPH.



Gambar 5. Struktur DPPH (Anonim, 1996).

7. Antioksidan

a. Pengantar

Antioksidan merupakan agen antiinflamasi yang bekerja melalui penangkapan radikal oksigen dan dapat menghambat segala tipe oksigenasi. Keberadaan antioksidan tubuh tersebut menyebabkan oksigen radikal di dalam tubuh hewan dan

manusia tidak memberikan pengaruh buruk asalkan jumlahnya seimbang (Pramono, 1999).

Sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, secara alami telah ada dalam tubuh kita. Dari asal terbentuknya, antioksidan ini dibedakan menjadi dua yakni intraseluler (di dalam sel) dan ekstraseluler (di luar sel) ataupun dari makanan. Antioksidan tubuh dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu:

1) Antioksidan primer

Antioksidan primer ini bekerja untuk mencegah pembentuk senyawa radikal bebas baru. Ia mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum radikal bebas ini sempat bereaksi. Contoh antioksidan ini adalah enzim SOD (superoksida dismutase) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas. Enzim SOD sebenarnya sudah ada dalam tubuh kita. Namun bekerjanya membutuhkan bantuan zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng, dan tembaga. Selenium (Se) juga berperan sebagai antioksidan. Jadi, jika ingin menghambat gejala dan penyakit degeneratif, mineral-mineral tersebut hendaknya tersedia cukup dalam makanan yang dikonsumsi setiap hari.

2) Antioksidan sekunder

Antioksidan ini berfungsi menangkap senyawa serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder: vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, bilirubin, dan albumin.

3) Antioksidan tersier

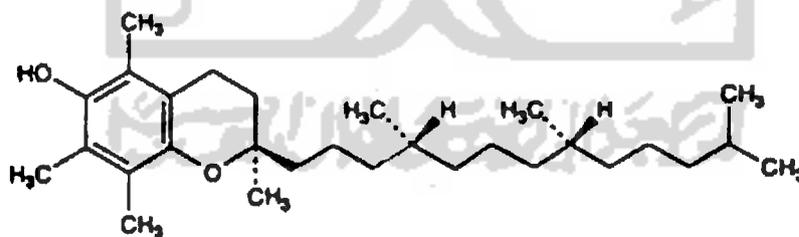
Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksidan reduktase. Adanya enzim-enzim perbaikan DNA ini berguna untuk mencegah penyakit kanker (Anonim, 2006).

Tubuh memerlukan tambahan antioksidan yang aktif dari luar setelah pemberian oral karena tubuh tidak selalu mengandalkan antioksidan tubuh untuk mengatasi kerusakan oksidatif yang terjadi. Enzim-enzim pembersih oksigen radikal

yaitu SOD, katalase dan glutathion peroksidase termasuk enzim yang mempunyai berat molekul tinggi sehingga tidak dapat diserap oleh usus dan hanya efektif bila disuntikkan. Antioksidan seperti vitamin C, E dan beta karoten terbukti efektif menurunkan oksigen radikal dalam tabung percobaan, dalam kenyataan seringkali tidak efektif mengobati beberapa kasus penyakit, berapapun tingginya kadar yang diberikan secara oral (Pramono, 1999).

b. Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E merupakan vitamin yang larut lemak, termasuk turunan kroman yang pada posisi 2 mengandung rantai samping dengan 16 atom C (Gambar 6). Antara vitamin E yang satu dengan yang lain hanya berbeda jumlah dan letak gugus metil pada cincin benzen. Vitamin E dapat dianggap produk kondensasi hidrokuinon termetilasi dengan fitol. α -tokoferol mempunyai kerja paling kuat. Sampai saat ini diketahui bahwa tokoferol hanya disintesis pada tanaman. Sumber vitamin E yang terbesar adalah kecambah, padi-padian dan minyak tanaman juga sayur-sayuran. Vitamin E bekerja pada metabolisme antara pada proses oksidasi reduksi dan sebagai penangkap radikal, menghambat pembentukan peroksida oleh asam lemak tak jenuh pada lipid membran serta menghambat oksidasi zat tubuh lainnya (Mutschler, 1991).



Gambar 6. Struktur Vitamin E (Anonim, 1996).

Penambahan vitamin E digunakan pada pasien yang menerima makanan sintetik yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh, juga bermanfaat untuk menghindari fibroplasia retrolental pada bayi yang diberi oksigen, juga pada pasien wanita yang menderita mastopati sistik (Mutschler, 1991).

B. Landasan Teori

Salah satu tanaman yang mudah dijumpai dan seringkali digunakan untuk pengobatan adalah rambutan. Daunnya digunakan untuk mengatasi diare, menghitamkan rambut, dan dapat pula digunakan sebagai *adstringent* pada lidah yang sakit. Daun rambutan mengandung flavonoid dan saponin (Dalimartha, 2003). Telah dilakukan penelitian oleh Mu'nim (2005) untuk mengetahui efek antioksidan beberapa tumbuhan yang di dalamnya mengandung flavonoid. Menurut Buhler dan Miranda (2003) tanaman yang mengandung flavonoid diketahui mempunyai efek antiradikal bebas atau antioksidan. Berdasarkan kandungan senyawa kimia yang ada di dalam daun rambutan, maka layak dilakukan penelitian mengenai efek antioksidan ekstrak daun rambutan (*Nephelii lappacei folium*).

C. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan di atas, dapat ditarik suatu hipotesis bahwa ekstrak etanolik daun rambutan (*Nephelii lappacei folium*) yang mengandung flavonoid diperkirakan mempunyai efek antioksidan dengan mekanisme meredam radikal bebas DPPH.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan Penelitian

a. Tanaman

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kering daun rambutan (*Nephelii lappacei folium*) yang daunnya diperoleh dari daerah Bayan Purworejo.

b. Bahan Kimia

Petroleum eter, etanol *pro analysis* (Merck), fase diam (lempeng silika gel GF 254), fase gerak (etil asetat, asam formiat, asam asetat, aqua destilata), pereaksi semprot $AlCl_3$, pereaksi Meyer, serbuk Mg, HCl, DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*) (Sigma-Aldrich); vitamin E (α -tokoferol) (Merck).

2. Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah sebagai berikut: mesin penyerbuk (Honda); alat-alat gelas (Pyrex); seperangkat alat sokhlet (Pyrex); timbangan analitik (Mettler Toledo tipe PL 303, Dragon 205); rotary evaporator (Heidolph tipe Heizbad WB); pipa kapiler; corong pisah; penggaris; gunting; kertas saring; chamber KLT; lampu UV 254 nm dan UV 366 nm; kuvet; spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2800).

B. Alur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII dengan berdasarkan buku "Flora of Java" (Backer and Van Den Brink, 1965).

2. Pengeringan dan Penyerbukan simplisia kering daun rambutan

Daun rambutan hasil sortasi dicuci bersih kemudian dikeringkan di lemari pengering pada suhu 40-50°C selama 4 hari dan diserbuk menggunakan mesin penyerbuk. Serbuk kemudian diayak dengan ayakan 30 mesh.

3. Pembuatan ekstrak etanolik daun rambutan

Serbuk diekstraksi menggunakan alat Soxhlet dengan cairan penyari petroleum eter kemudian dengan etanol *pro analysis*. Untuk setiap 30 g serbuk digunakan 300 ml petroleum eter. Setelah cairan penyari jernih, proses ekstraksi dihentikan dan kemudian dilakukan pengeringan serbuk dengan cara dimasukkan pada lemari pengering kemudian diekstraksi kembali dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1 gram serbuk daun rambutan dalam 10 ml etanol hingga berwarna bening. Filtrat etanol yang didapat, diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan penangas air sehingga diperoleh ekstrak kental yang kemudian disimpan dalam desikator.

4. Identifikasi Flavonoid

a. Pemeriksaan pendahuluan dengan pereaksi kimia

Larutan ekstrak sebanyak 1 ml ditambah dengan 0,02 g serbuk Mg dan 2 ml HCl 2 N akan menimbulkan warna jingga sampai merah.

b. Pemeriksaan dengan KLT

Ekstrak dilarutkan dalam etanol ditotolkan sekitar 5 totolan pada plat kemudian dimasukkan dalam bejana yang telah jenuh yang berisi fase gerak etil asetat:asam formiat:asam asetat:air (100:11:11:27), kemudian biarkan fase gerak merambat sampai batas yang ditentukan, keluarkan lempeng kemudian diuapi dengan amonia (NH₃), amati di bawah lampu UV 254 nm, UV 365 nm dan visibel, hitung nilai R_f, kemudian bandingkan dengan kromatogram zat pembanding yaitu rutin.

5. Pembuatan larutan uji dan vitamin E

Larutan dibuat dengan pengenceran ekstrak dan vitamin E dengan seri konsentrasi 1; 3; 5; 7 dan 9 $\mu\text{g/ml}$ dengan menggunakan pelarut etanol.

6. Pembuatan larutan standar DPPH 0,08 mM

Dibuat konsentrasi 2 mM DPPH dalam etanol, dengan melarutkan 79 mg DPPH dengan pelarut etanol sampai volume 100 ml. Ambil 2 ml dari larutan DPPH 2 mM tersebut, encerkan dengan etanol hingga volume 50 ml sehingga diperoleh larutan DPPH 0,08 mM, diamkan 30 menit ditempat yang terlindung dari cahaya.

7. Penetapan λ maks DPPH

Penetapan λ maksimum DPPH dilakukan sesuai dengan prosedur penetapan spektrofotometer dalam menentukan λ maksimum suatu cuplikan. DPPH dilarutkan dalam etanol kemudian diamati pada λ 400-600 nm.

8. Penentuan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dari ekstrak daun rambutan dengan pembanding vitamin E

Larutan uji sebanyak 1,5 ml dengan konsentrasi 1; 3; 5; 7 dan 9 $\mu\text{g/ml}$, ditambah 3,0 ml DPPH, dihomogenkan, didiamkan 20 menit dan dibaca absorbansinya pada λ maksimum terhadap blangko etanol. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap vitamin E dengan konsentrasi 1; 3; 5; 7 dan 9 $\mu\text{g/ml}$.

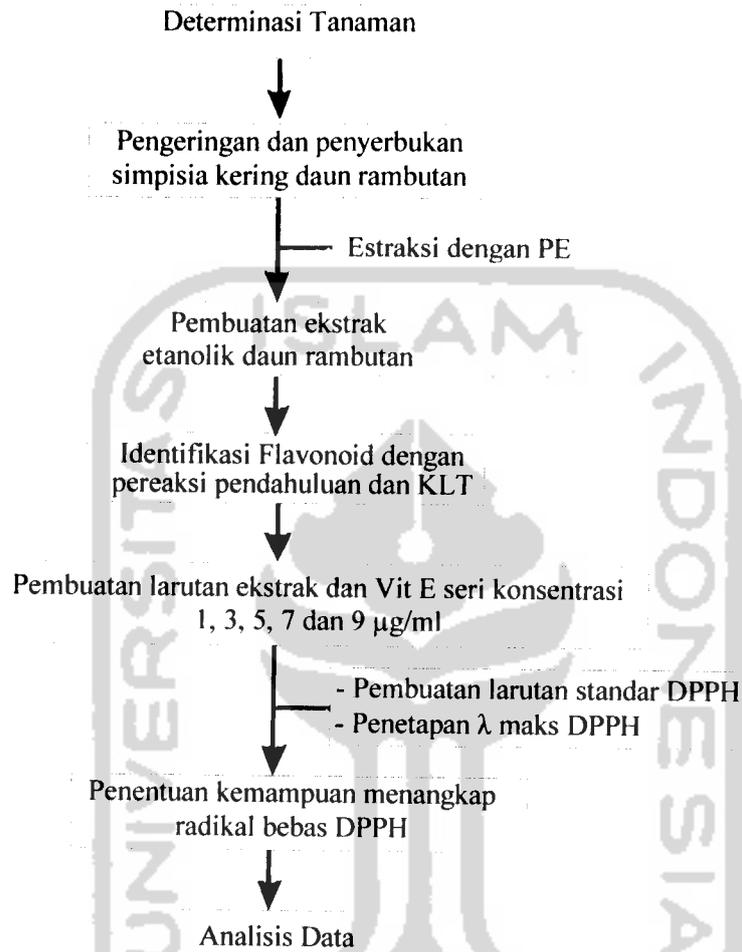
C. Analisis Hasil

Aktivitas anti radikal ditentukan dengan metode DPPH. Nilai aktivitas anti radikal atau penangkapan radikal (*radical scavenging*) dihitung dengan rumus

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{absorbansi standar} - \text{absorbansi bahan uji}}{\text{absorbansi standar}} \times 100\%$$

Dari data persen peredaman dihitung persamaan regresi dan koefisien korelasi r . Selanjutnya dengan menggunakan persamaan tersebut dihitung kapasitas peredamannya berdasarkan nilai *effective scavenging 50* (ES_{50}) yaitu konsentrasi ekstrak yang memberikan 50% penangkapan radikal. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah molekul yang mengalami peredaman. Hasil dibandingkan dengan vitamin E (α -tokoferol) secara statistik menggunakan *paired sample T-Test*.



Skema penelitian

BAB IV HASIL & PEMBAHASAN

a. Determinasi tanaman

Untuk langkah awal dilakukan determinasi tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum* L). Determinasi tanaman perlu dilakukan sebagai tahap awal dalam penelitian dengan maksud mendapatkan kebenaran identitas dari tanaman yang diteliti, menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama dan mencegah kemungkinan tercampurnya tanaman yang diteliti dengan tanaman lain.

Daun rambutan dikumpulkan dari daerah yang sama yaitu daerah Bayan Purworejo dengan maksud untuk menghindari variabel kandungan kimia yang terlalu besar. Pengambilan bahan dari suatu daerah yang berbeda dapat mengakibatkan kandungan kimia yang bervariasi. Pada saat dilakukannya determinasi tanaman, bagian tanaman yang dideterminasi tidak secara keseluruhan, hanya batang dan daun saja. Tetapi bagian tanaman tersebut sudah cukup mewakili untuk dilakukannya determinasi. Oleh karena itu, diperlukan ketelitian untuk memperoleh hasil yang akurat mengenai tanaman yang digunakan untuk penelitian ini (Lampiran 2). Kemudian didapatkan hasil sebagai berikut :
1b-2b -3b-4b -6b-7b- 9b-10b- 11b-12b-13b-14a-15b- (gol.9 Daun-daun majemuk tersebar)- 197b- 208b- 219b- 220a- 221b- 222a- (69 famili *Sapindaceae*) -1b-5a- (*Nephelium*)-1b-(*Nephelium lappaceum*, L.) (Backer and Van Den Brink, 1965).

b. Pembuatan simplisia

Daun rambutan yang telah dikumpulkan kemudian dicuci menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada simplisia. Daun yang telah bersih dan bebas dari sisa air kemudian dikeringkan dalam lemari pengering dengan suhu 40-50°C. Pengeringan menggunakan lemari pengering dapat menghindari kontak sinar matahari secara langsung dengan daun yang dapat merusak kandungan kimia dan dapat memperkecil terjadinya kontaminasi.

Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, dan mencegah tumbuhnya jamur atau cendawan. Bahan yang telah dikeringkan dapat disimpan

dalam jangka waktu yang lebih lama dan tidak mudah rusak sehingga komposisi kimianya tidak mengalami perubahan.

Daun rambutan yang telah kering dibuat menjadi serbuk dengan cara menghaluskannya menggunakan *grinder*. Hal ini dimaksudkan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga interaksi antara pelarut dengan senyawa yang diekstrak akan semakin besar. Ukuran bahan mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Ukuran bahan yang terlalu besar mengakibatkan kontak antara pelarut dengan komponen yang akan dipisahkan lebih kecil karena luas permukaan bahan lebih kecil, sehingga penyarian kurang efektif.

c. Ekstraksi serbuk daun rambutan

Ekstrak didapatkan dengan menggunakan metode penyarian berkesinambungan yaitu penyarian dengan alat soklet menggunakan pelarut etanol. Penyarian dengan alat soklet ini memerlukan cairan penyari dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan metode lain dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat. Serbuk daun rambutan dibungkus rapat dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam alat soklet. Pelarut dimasukkan ke dalam labu alas bulat melalui bagian atas soklet agar terjadi kontak dengan bahan yang akan diekstrak.

Dengan adanya pemanasan, pelarut akan mencapai titik didihnya. Pada saat pelarut mendidih, terjadi keseimbangan antara fase uap dengan fase cair dalam labu alas bulat. Fase uap akan keluar melalui pipa menuju ke pendingin dan akhirnya mengembun. Embun akan menetes pada soklet mengenai serbuk daun rambutan. Pelarut ditampung dalam soklet sampai tingginya mencapai tinggi pipa kapiler.

Selama ditampung dalam pipa kapiler di dalam soklet terjadi kontak lebih lama antara bahan yang diekstrak dengan pelarut sehingga pemisahan optimal. Setelah tinggi mencapai pipa kapiler, pelarut yang telah membawa komponen kimia yang akan dipisahkan dari bahan akan kembali turun ke labu alas bulat. Pelarut akan mendidih kembali dan menguap menuju kondensor. Proses ini berlangsung terus-menerus sampai komponen yang dipisahkan dapat larut dalam pelarut, hal ini dapat terlihat dari larutan yang berwarna bening.

Ekstraksi dilakukan dua langkah, yaitu ekstraksi menggunakan pelarut petroleum eter dan pelarut etanol. Ekstraksi dengan pelarut petroleum eter bertujuan untuk menghilangkan senyawa nonpolar seperti lipid. Dengan adanya penghilangan lemak maka diharapkan dapat mengaktifkan gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa fenolik. Ekstraksi dengan pelarut etanol dimaksudkan untuk memisahkan senyawa yang bersifat polar, karena etanol tergolong pelarut polar, sehingga sebagian besar senyawa fenolik yang diduga memiliki aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun rambutan dapat tersari. Bobot awal serbuk yang di ekstraksi adalah 30 g, kemudian setelah dilakukan ekstraksi dan diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* dihasilkan 6,63 g ekstrak kental.

d. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun rambutan dengan metode KLT

Hasil identifikasi kimia untuk mengetahui adanya kandungan flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun rambutan yang direaksikan dengan serbuk Mg dan HCl 2 N menghasilkan intensitas warna kuning yang semakin menguat sehingga masih perlu dibuktikan dengan KLT.

Hasil identifikasi lanjutan dengan KLT, menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat:asam formiat:asam asetat:air dengan perbandingan 100:11:11:27 didapat profil kromatogram ekstrak (Gambar 7) yaitu mempunyai tiga bercak yang setelah diuapi dengan amonia terlihat warna bercak hijau tua dan dua bercak kelabu di bawah sinar UV 254 sedangkan pada pembanding rutin berwarna kuning, menunjukkan adanya flavonoid. Di bawah lampu visibel terlihat dua bercak ekstrak, berwarna hijau tua dan kuning. Pada pembanding rutin berwarna kuning. Warna kuning pada lampu visibel menunjukkan adanya flavonoid. Nilai R_f ekstrak etanolik daun rambutan adalah 0,47 dan R_f pembanding rutin adalah 0,52 menunjukkan bahwa bercak tersebut adalah flavonoid. Warna biru kelabu di UV 365 pada ekstrak dan warna coklat pada pembanding rutin juga menunjukkan bahwa di dalam keduanya terkandung flavonoid.

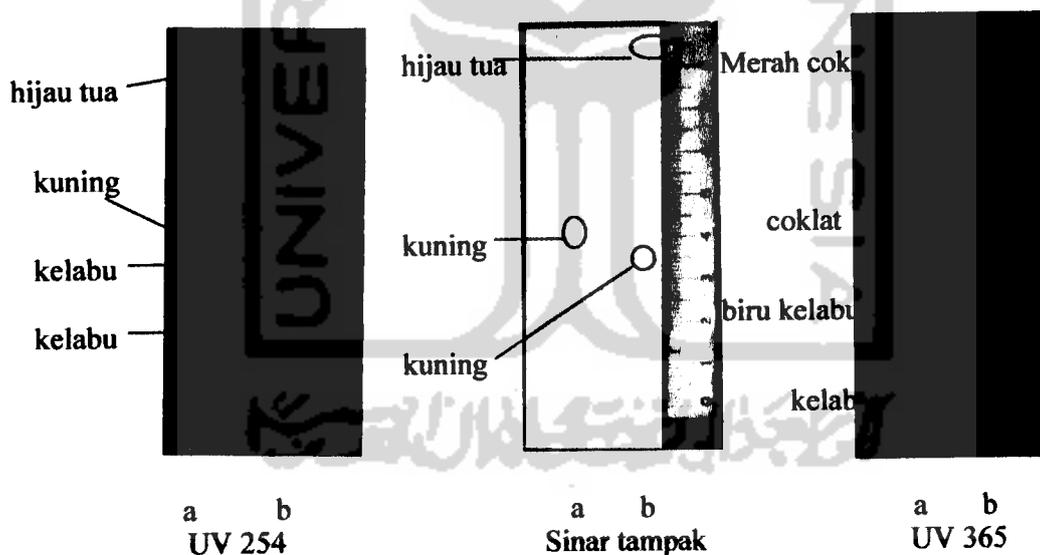
Tabel III menunjukkan hasil pembacaan warna dan nilai hRf masing-masing bercak ekstrak pada KLT. Warna dan nilai hRf masing-masing bercak rutin dapat dilihat pada Tabel IV.

Tabel III. Hasil pembacaan warna bercak KLT ekstrak

Visibel		UV 254		UV 365	
hRF	Warna	hRF	Warna	hRF	Warna
94	Hijau tua	94	Hijau tua	94	Merah coklat
47	Kuning	47	Kelabu	47	Biru kelabu
		25,88	Kelabu	25,88	Kelabu

Tabel IV. Hasil pembacaan warna bercak KLT pembanding (rutin)

Visibel		UV 254		UV 365	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
52	Kuning	52	Kuning	52	Coklat



Keterangan :

a : Pembanding (rutin)

b : Ekstrak etanolik daun rambutan

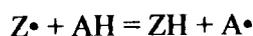
Fase diam : silika gel GF₂₅₄

Fase gerak : Etil asetat:Asam formiat:Asam asetat:Air (100:11:11:27)

Gambar 7. Hasil kromatogram ekstrak dan pembanding flavonoid

e. Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun rambutan menggunakan metode DPPH, dan untuk pembandingnya digunakan senyawa antioksidan yaitu vitamin E. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya membutuhkan sedikit sampel (Hanani, 2005). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan peluruhan warna DPPH (Blois, 1958). Untuk reaksi donasi atom hidrogen pada DPPH dapat dilihat pada reaksi berikut:



$Z\cdot$ adalah bentuk radikal bebas, AH adalah molekul pendonor (senyawa antioksidan), ZH adalah bentuk radikal bebas yang ternetralkan dan $A\cdot$ adalah bentuk radikal yang ditinggalkan oleh atom H \cdot , yang terstabilkan oleh adanya delokalisasi elektron (Molyneux, 2004). Pada reaksi donasi atom hidrogen terjadi peluruhan warna akibat adanya aktivitas peredaman yang dapat digambarkan sebagai berikut:

DPPH (berwarna ungu) + antioksidan (ekstrak etanolik daun rambutan) → DPPH-H (tidak berwarna).

Warna yang muncul pada DPPH disebabkan oleh struktur kimia DPPH yang punya banyak ikatan rangkap terkonjugasi, oleh karena itu dilakukan pembacaan dengan spektrofotometer pada daerah panjang gelombang sinar tampak atau visibel. Panjang gelombang maksimum dari DPPH pada penelitian ini adalah 516,5 nm (Lampiran 8). Panjang gelombang DPPH menurut Molyneux (2004) adalah sekitar 520 nm.

DPPH disimpan pada tempat gelap terlindung dari cahaya agar tidak terjadi peristiwa oksidasi molekul karena adanya cahaya. Sebelum radikal bebas dan senyawa peredam radikal bebas dicampurkan, larutan DPPH dibuat pada konsentrasi yang sama untuk kedua sampel uji. Demikian juga dengan konsentrasi ekstrak etanolik daun rambutan dan vitamin E dibuat dengan peringkat dosis yang sama pula. Peredaman radikal bebas ditandai dengan menurunnya absorbansi DPPH serta berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan kontrol DPPH setelah larutan ekstrak dan vitamin E dicampurkan dalam tabung reaksi (Lampiran 4). Semakin besar konsentrasi ekstrak etanolik daun rambutan dan vitamin E yang

dapat meredam aktivitas radikal bebas dari DPPH maka akan semakin besar intensitas perubahan warnanya.

Tabel V. Peredaman ekstrak etanolik daun rambutan terhadap radikal bebas DPPH

No	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% peredaman
1	0,33	0,503	37,438
		0,501	37,668
		0,503	37,438
2	1,00	0,497	38,184
		0,493	38,681
		0,494	38,557
3	1,67	0,468	41,791
		0,466	42,039
		0,469	41,667
4	2,33	0,441	45,149
		0,443	44,900
		0,447	44,403
5	3,00	0,401	50,124
		0,400	50,249
		0,401	50,124

Kontrol: 0,804

Keterangan: Konsentrasi DPPH kontrol adalah sebesar 0,08 mM.

$$\text{Konsentrasi DPPH dalam larutan ekstrak adalah } \frac{0,08 \text{ mM}}{1,5} = 0,053 \text{ mM}$$

Peredaman ekstrak etanolik daun rambutan terhadap DPPH (Tabel V) dianalisis dengan metode parametrik *Oneway Anova* (Hanani, 2005), diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti peredaman ekstrak berbeda bermakna terhadap peringkat kadar yang lain (Lampiran 5). Kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey* untuk melihat perbedaan tiap peringkat kadar secara lebih terperinci. Dari hasil uji *Tukey* diperoleh hasil perbedaan yang bermakna untuk tiap peringkat kadar. Pada *Post Hoc Test Homogeneous Subset* untuk peredaman diatas terdapat lima subset artinya peringkat dosis mempunyai perbedaan yang signifikan satu dengan yang lainnya. Berbeda bermakna di sini dapat diartikan bahwa terjadi perbedaan persen peredaman pada tiap-tiap seri kadar.

Penentuan aktivitas antiradikal dari ekstrak etanolik daun rambutan dihitung hasilnya terlihat dalam Tabel VI. Nilai intersep yang didapatkan adalah sebesar 34,660 dan nilai slopenya adalah 4,742.

Tabel VI. Aktivitas antiradikal ekstrak etanolik daun rambutan terhadap radikal bebas DPPH

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi (n=3)	% Peredaman \pm SD
0,33	0,502	35,521 \pm 0,143
1,00	0,495	38,474 \pm 0,257
1,67	0,468	41,822 \pm 0,193
2,33	0,444	44,817 \pm 0,379
3,00	0,401	50,166 \pm 0,072

$$y = bx + a$$

$$r = 0,973$$

$$y = 4,742x + 34,660$$

$$ES_{50} = 3,235 \mu\text{g/ml}$$

Tabel VII. Peredaman vitamin E terhadap radikal bebas DPPH

No	Kadar($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% peredaman
1	0,33	0,531	33,207
		0,534	32,830
		0,530	33,333
2	1,00	0,515	35,220
		0,516	35,094
		0,513	35,472
3	1,67	0,477	40,000
		0,469	41,006
		0,470	40,880
4	2,33	0,448	43,648
		0,445	44,025
		0,448	43,648
5	3,00	0,442	46,918
		0,414	47,924
		0,410	48,428

Kontrol: 0,795

Keterangan: Konsentrasi DPPH kontrol adalah sebesar 0,08 mM.

$$\text{Konsentrasi DPPH dalam larutan vitamin E adalah } \frac{0,08 \text{ mM}}{1,5} = 0,053 \text{ mM}$$

Peredaman vitamin E terhadap DPPH (Tabel VII) dianalisa dengan metode parametrik Oneway Anova, diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti peredaman ekstrak berbeda bermakna terhadap peringkat kadar yang lain (Lampiran 6). Kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat perbedaan tiap peringkat kadar secara lebih terperinci. Dari hasil uji Tukey diperoleh hasil perbedaan yang bermakna untuk tiap peringkat kadar. Berbeda bermakna di sini dapat diartikan bahwa terjadi perbedaan persen peredaman pada tiap-tiap seri kadar.

Pada *Post Hoc Test Homogeneous Subset* untuk peredaman diatas terdapat lima subset artinya peringkat dosis mempunyai perbedaan yang signifikan satu dengan yang lainnya.

Penentuan aktivitas antiradikal dari vitamin E dihitung dan diperoleh hasil seperti dalam Tabel VIII. Nilai intersep yang didapatkan adalah sebesar 30,672 dan nilai slopenya adalah 5,664.

Tabel VIII. Aktivitas antiradikal vitamin E terhadap radikal bebas DPPH

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi (n=3)	% Peredaman \pm SD
0,33	0,532	33,123 \pm 0,262
1	0,515	35,262 \pm 0,192
1,67	0,472	40,629 \pm 0,548
2,33	0,447	43,774 \pm 0,218
3	0,415	47,757 \pm 0,769

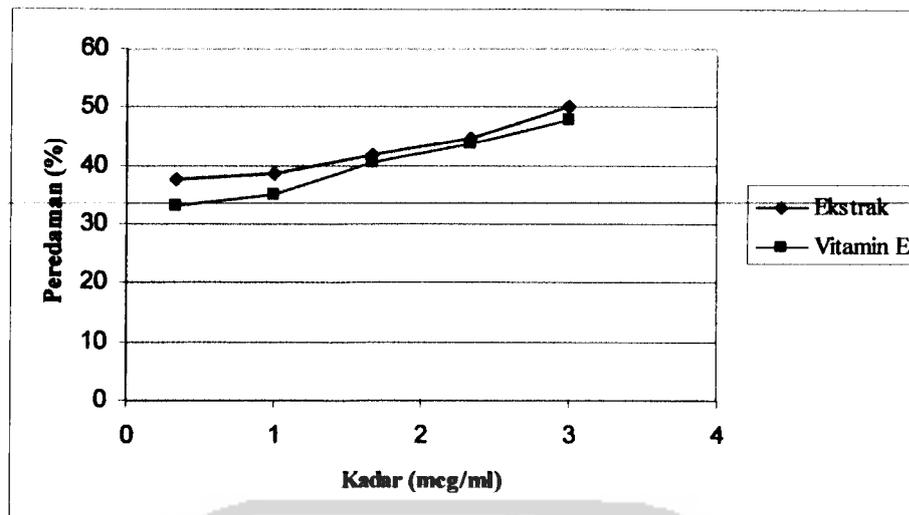
$$y = bx + a$$

$$y = 5,664x + 30,672$$

$$r = 0,994$$

$$ES_{50} = 3,412 \mu\text{g/ml}$$

Semakin besar kadar ekstrak etanolik daun rambutan dan vitamin E yang digunakan maka nilai peredaman terhadap DPPH juga semakin besar. Gambar 8 berikut menunjukkan perbandingan persen peredaman antara ekstrak dan vitamin E, dalam gambar terlihat bahwa kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH lebih tinggi daripada vitamin E, terlihat pada garis ekstrak yang berada di atas garis vitamin E.



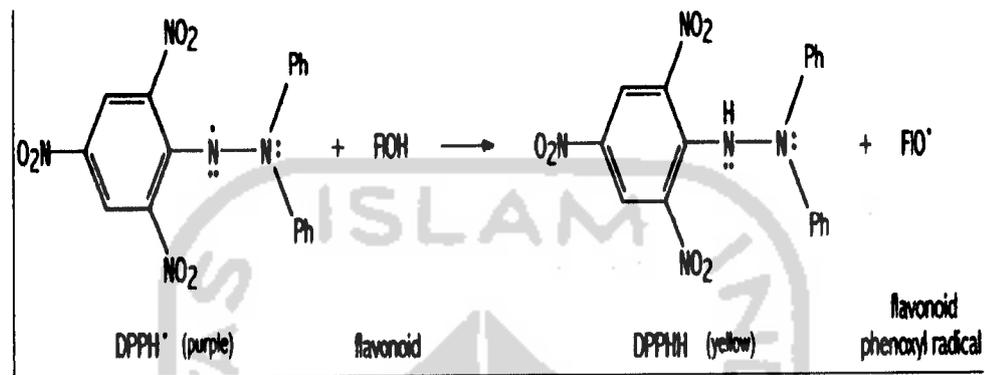
Gambar 8. Kurva perbandingan persen peredaman antara ekstrak etanolik daun rambutan dan vitamin E terhadap DPPH

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun rambutan mempunyai ES_{50} sebesar 3,235 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, karena mempunyai ES_{50} kurang dari 200 $\mu\text{g/ml}$ (Blois, 1958). Semakin kecil nilai ES_{50} maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai antiradikal. Jika dibandingkan dengan vitamin E yang mempunyai ES_{50} sebesar 3,412 $\mu\text{g/ml}$ maka ekstrak etanolik daun rambutan mempunyai aktivitas yang lebih baik. Ekstrak mempunyai aktivitas antiradikal karena adanya flavonoid didalamnya, aktivitas semakin kuat karena kemungkinan adanya senyawa lain turunan polifenol yang terkandung di dalam ekstrak.

Untuk melihat perbedaan antara kedua sampel maka dilakukan analisis statistik dengan menggunakan *Paired Sampel T-Test* didapatkan nilai signifikansi 0,018 ($< 0,05$) maka berarti antara ekstrak uji dan vitamin E berbeda signifikan, artinya kemampuan keduanya dalam peredaman DPPH tidak sama atau berbeda secara signifikan (Lampiran 7).

Flavonoid dalam ekstrak etanolik daun rambutan berkemampuan sebagai donor hidrogen yang akan mendonorkan $\text{H}\cdot$. Mekanisme reaksi flavonoid dengan DPPH merupakan reaksi penetralan molekul radikal bebas DPPH. Flavonoid akan mendonorkan atom $\text{H}\cdot$ untuk berikatan dengan atom $\text{N}\cdot$ pada DPPH. Atom $\text{O}\cdot$ yang ditinggalkan oleh atom $\text{H}\cdot$ dalam molekul flavonoid akan terstabilkan

melalui mekanisme delokalisasi elektron. Pengurangan DPPH radikal bebas ditunjukkan dengan penurunan intensitas warna ungu. Intensitas warna ungu DPPH semakin berkurang dengan semakin tingginya kadar ekstrak etanolik daun rambutan, karena jumlah flavonoid yang berfungsi sebagai donor H^{\bullet} semakin banyak. Gambar 9 berikut ini menunjukkan reaksi suatu flavonoid dengan DPPH:



Gambar 9. Reaksi peredaman suatu flavonoid dengan radikal bebas DPPH (Amic *et al.*, 2002).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Ekstrak etanolik daun rambutan mempunyai kemampuan meredam radikal bebas DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Kemampuan meredam radikal bebas DPPH dari ekstrak etanolik daun rambutan lebih besar daripada vitamin E.
2. Nilai ES_{50} dari ekstrak etanolik daun rambutan adalah sebesar 3,24 $\mu\text{g/ml}$, lebih rendah dari vitamin E yakni 3,41 $\mu\text{g/ml}$.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan metode yang lain.
2. Perlu dilakukan identifikasi dan isolasi senyawa aktif lebih lanjut, khususnya flavonoid yang diduga berperan dalam peredaman radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

DAFTAR PUSTAKA

- Amic, D., Davidovic-Amic, D., Beslo, D., dan Trinajstic, N., 2003, Structure-Radical Scavenging Relationship of Flavonoids, *Croatica Chemica Acta*, 76 (1) : 55-61.
- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 6-9.
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 4-25.
- Anonim, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 549-553.
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 7, 75, 107-108, 488-489, 515, 1086.
- Anonim, 1996, *The Merck Index, An Encyclopedia of Chemical Drugs and Biological*, Twelfth Edition, Merck and Co., Inc., New Jersey, 3389, 10159.
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Sediaan Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan Pertama, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9.
- Anonim, 2003, *Rambutan*, available at <http://www.montosogardens.com> (diakses 24 Februari 2007).
- Anonim, 2006, *Antioksidan, Resep Sehat dan Panjang Umur*, available at <http://www.wikipedia.org/wiki/radikalbebas> (diakses 11 Januari 2007).
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., UI Press, Jakarta, 85, 261, 269, 274.
- Backer, C.A., dan Van Den Brink, B.R.C., 1965, *Flora of Java: book II*, N.V.P. Noor Dhoff-Groningen The Netherland, 138.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant Determinations By The Use of a Stable Free Radical, *Nature*, 1199-1200.
- Boer, Y., 2000, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq), *Jurnal Matematika dan IPA 1*, (1): 26-33.
- Buhler, R. D., dan Miranda, C., *Antioxidant Activities of Flavonoids*, available at <http://www.oregonstate.edu> (diakses 30 mei 2007).
- Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 3, Puspa Swara, Jakarta, 114-118.

- Djumidi, Sutjipto, Gotama, I.B., Sugiarto, S., Nurhadi, M., Widiastuti, Y., Wahyono, S., dan Prapti, I.Y., 1999, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Edisi V, Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Lembaga Kesehatan, Jakarta, 147-148.
- Gitawati, R., 1995, *Radikal Bebas, Sifat dan Peranan dalam Menimbulkan Kerusakan Sel*, *Cermin Dunia Kedokteran*, 102, 33-35.
- Goodwin, T.M., 1962, *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, Academic Press, London.
- Hanani, E., Mu'nim, A., dan Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* Sp. Dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2 (3): 127-133.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penerbit ITB, Bandung, 6-7.13-15.72-89.
- Hendayana, S., Kadarrohman, A., Sumarna, A.A., Supriatna, A., 1994, *Kimia Analitik Instrumen*, IKIP Semarang Press, 155-164.
- Hertiani, T., 2000, Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Antioksidan dari Daun *Plantago Major* (L.), *Tesis*, 18, Program Pascasarjana, UGM, Yogyakarta.
- Huang, D., Boxinou, dan Prior, R.R., 2005, The Chemistry Behind Antioxidant Assay. *J. Agric. Food Chem.*, 53 (6): 1849-4850.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., dan Taniguci, H., 2002, Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds, *J. Agric. Food Chem.*, 50: 2161-2168.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., dan Thomas, M.B., 1970. *The Systematic Identification of Flavonoids*, New York, Springer, Verlag.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 15-16, 38-41.
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin, J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219.
- Morton, J.F., 1987, *Rambutan. P., Fruits of Warm Climates*, Miami, F.L., 262-265.
- Mutschler, E., 1991, *Dinamika Obat*, diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto, Penerbit ITB, Bandung, 599-600.

- Pedricelli, P., 2001, Antioxidant Mechanism of Flavonoids, Solvent Effects on Rate Constant for Chain Breaking of Quersetin and Epicatechin Autoxidaton of Methyl Linoleat, *J. Agric. Food Chem.*, **49**: 3034-3040.
- Pokorni, J., Yanishlieva, N., dan Gordon, M., 2001, *Antioxidant in Food, Practical Applicatons*, CRC Press, New York.
- Pramono, 1999, Bahan Obat Alami untuk Mencegah Proses Penuaan Dini, *Makalah Seminar: Bahan Obat Alami dalam Pencegahan Proses Penuaan Dini*, 16 Oktober 1999, Badan Pengelola Penelitian, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Prior, R.R., Wu, X., dan Schaich, K., 2005, Standardized Methods for The Determination Of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem.*, **53** (6): 1849.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, ITB Bandung, 191-196. 209.
- Sastrohamidjojo, H., 2001a, *Kromatografi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta, 26-37.
- Sastrohamidjojo, H., 2001b, *Spektroskopi*, Liberty Yogyakarta, 39-42.
- Sibuea, P., 2003, *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*, Sinar Harapan, Yogyakarta.
- Sofia, D., 2003, *Antioksidan dan Radikal Bebas*, available at <http://www.chemistry.org> (diakses 11 Januari 2007).
- Stahl, E., 1985, *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, Penerbit ITB, Bandung, 1-17.
- Sumarno, 2000, *Modul Analisis Instrumen*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Suyatna, D.F., 1989, Radikal Bebas dan Iskhemia, *Cermin Dunia Kedokteran*, No.57, 25.
- Voigt, R., 1984, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan Soendani Noerono Soewandhi, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 161, 170, 201-206, 208, 324, 360, 577-578.
- Wagner, H., Blat, S., dan Zgainski, E.M, 1984, *Plant Drugs Analysis: a Thin Layer Chromatography*, Atlas, Springer, Verlag, Tokyo, 163, 164.
- Zee, F.T., 1995, *National Clonal Germplasm Repository, USDA-ARS Hilo, HI*.

Lampiran 1. Pohon rambutan



Lampiran 2. Surat keterangan determinasi

**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
LABORATORIUM BIOLOGI FARMASI**

Alamat : Jl.Kaliurang Km 14,4 Yogyakarta
Telpon : (0274) 895920 Ext. 3033

SURAT KETERANGAN
Nomor:27/ UII/Jur Far/ det/VI/2007

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Evitta Trias Amelina
NIM : 03613123
Pada Tanggal : 15 Maret 2007

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra. Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Nephelium lappaceum*,L (rambutan)

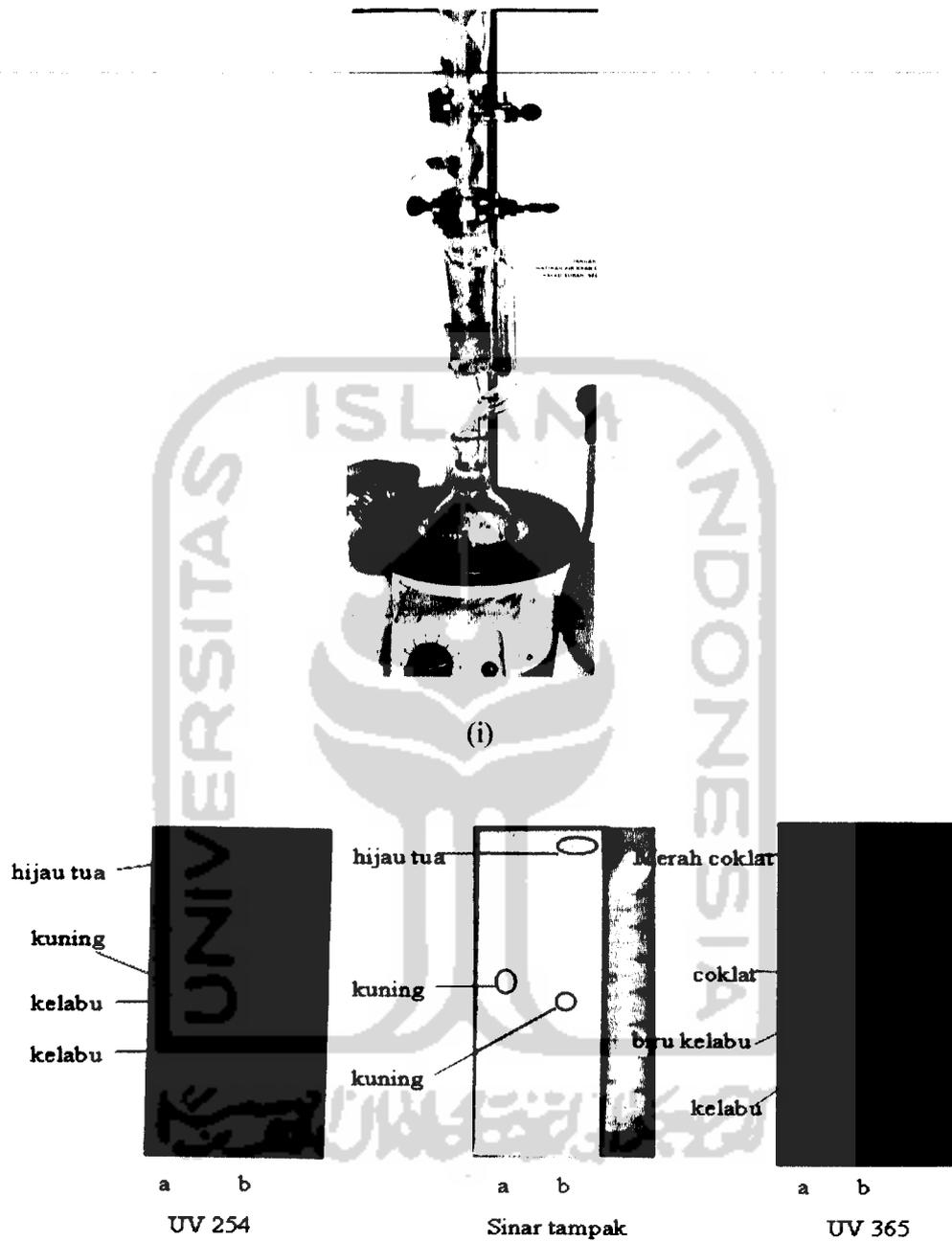
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 18 Maret 2007
Laboratorium Biologi Farmasi
Kepala



Pinus Jumaryatno.S.Si.,MPhil., Apt.
NIP. 986130103

Lampiran 3. Alat soklet (i) dan hasil kromatogram ekstrak dengan metode KLT
(ii)



Keterangan :

a : Pembanding (rutin)

b : Ekstrak

Fase diam : silika gel GF₂₅₄

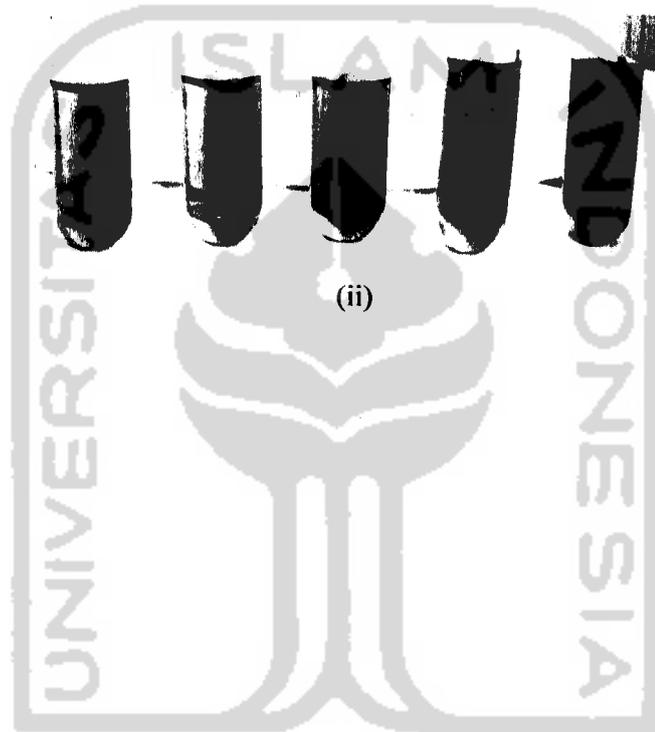
Fase gerak : Etil asetat:Asam formiat:Asam asetat:Air (100:11:11:27)

(ii)

Lampiran 4. Larutan DPPH (i) dan larutan DPPH yang sudah teredam oleh antioksidan (ii)



(i)



(ii)

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Lampiran 5. Analisis Oneway Anova Ekstrak

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		persen peredaman ekstrak	KADAR
N		15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	42.56200	3.0000
	Std. Deviation	4.760177	1.46385
Most Extreme Differences	Absolute	.193	.153
	Positive	.193	.153
	Negative	-.144	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.746	.592
Asymptotic Significance (2-tailed)		.634	.875

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

persen peredaman ekstrak								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0.33 mcg/ml	3	37.52067	.143183	.082667	37.16498	37.87635	37.438	37.686
1 mcg/ml	3	38.47400	.258687	.149353	37.83139	39.11661	38.184	38.681
1.67 mcg/ml	3	41.83233	.189413	.109358	41.36181	42.30286	41.667	42.039
2.33 mcg/ml	3	44.81733	.379808	.219282	43.87384	45.76083	44.403	45.149
3 mcg/ml	3	50.16567	.072169	.041667	49.98639	50.34494	50.124	50.249
Total	15	42.56200	4.760177	1.229072	39.92590	45.19810	37.438	50.249

Test of Homogeneity of Variances

persen peredaman ekstrak				
Levene Statistic	df1	df2	Significance	
2.088	4	10	.157	

ONEWAY ANOVA

persen peredaman ekstrak					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	316.684	4	79.171	1451.294	.000
Within Groups	.546	10	.055		
Total	317.230	14			

Lampiran 5 (lanjutan).

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: persen peredaman ekstrak

Tukey HSD

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0.33 mcg/ml	1 mcg/ml	-.95333*	.190704	.004	-1.58096	-.32571
	1.67 mcg/ml	-4.31167*	.190704	.000	-4.93929	-3.68404
	2.33 mcg/ml	-7.29667*	.190704	.000	-7.92429	-6.66904
	3 mcg/ml	-12.64500*	.190704	.000	-13.27262	-12.01738
1 mcg/ml	0.33 mcg/ml	.95333*	.190704	.004	.32571	1.58096
	1.67 mcg/ml	-3.35833*	.190704	.000	-3.98596	-2.73071
	2.33 mcg/ml	-6.34333*	.190704	.000	-6.97096	-5.71571
	3 mcg/ml	-11.69167*	.190704	.000	-12.31929	-11.06404
1.67 mcg/ml	0.33 mcg/ml	4.31167*	.190704	.000	3.68404	4.93929
	1 mcg/ml	3.35833*	.190704	.000	2.73071	3.98596
	2.33 mcg/ml	-2.98500*	.190704	.000	-3.61262	-2.35738
	3 mcg/ml	-8.33333*	.190704	.000	-8.96096	-7.70571
2.33 mcg/ml	0.33 mcg/ml	7.29667*	.190704	.000	6.66904	7.92429
	1 mcg/ml	6.34333*	.190704	.000	5.71571	6.97096
	1.67 mcg/ml	2.98500*	.190704	.000	2.35738	3.61262
	3 mcg/ml	-5.34833*	.190704	.000	-5.97596	-4.72071
3 mcg/ml	0.33 mcg/ml	12.64500*	.190704	.000	12.01738	13.27262
	1 mcg/ml	11.69167*	.190704	.000	11.06404	12.31929
	1.67 mcg/ml	8.33333*	.190704	.000	7.70571	8.96096
	2.33 mcg/ml	5.34833*	.190704	.000	4.72071	5.97596

*. Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

persen peredaman ekstrak

Tukey HSD^a

KADAR	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
0.33 mcg/ml	3	37.52067				
1 mcg/ml	3		38.47400			
1.67 mcg/ml	3			41.83233		
2.33 mcg/ml	3				44.81733	
3 mcg/ml	3					50.16567
Significance		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means are displayed ...

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 6. Analisis Oneway Anova Vitamin E

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KADAR	Persen Peredaman Vitamin E
N		15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0000	40.10887
	Std. Deviation	1.46385	5.577553
Most Extreme Differences	Absolute	.153	.197
	Positive	.153	.197
	Negative	-.153	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	.763
Asymptotic Significance (2-tailed)		.875	.605

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

Persen Peredaman Vitamin E

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0.33 mcg/ml	3	33.12333	.261730	.151110	32.47316	33.77351	32.830	33.333
1 mcg/ml	3	35.26200	.192468	.111122	34.78388	35.74012	35.094	35.472
1.67 mcg/ml	3	40.62867	.548074	.316431	39.26717	41.99016	40.000	41.006
2.33 mcg/ml	3	43.77367	.217661	.125667	43.23297	44.31437	43.648	44.025
3 mcg/ml	3	47.75667	.768782	.443856	45.84691	49.66643	46.918	48.428
Total	15	40.10887	5.577553	1.440118	37.02012	43.19761	32.830	48.428

Test of Homogeneity of Variances

Persen Peredaman Vitamin E

Levene Statistic	df1	df2	Significance
2.772	4	10	.087

ONEWAY ANOVA

Persen Peredaman Vitamin E

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	433.439	4	108.360	518.798	.000
Within Groups	2.089	10	.209		
Total	435.527	14			

Lampiran 6 (lanjutan).

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Persen Peredaman Vitamin E

Tukey HSD

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0.33 mcg/ml	1 mcg/ml	-2.13867*	.373155	.001	-3.36675	-.91058
	1.67 mcg/ml	-7.50533*	.373155	.000	-8.73342	-6.27725
	2.33 mcg/ml	-10.65033*	.373155	.000	-11.87842	-9.42225
	3 mcg/ml	-14.63333*	.373155	.000	-15.86142	-13.40525
1 mcg/ml	0.33 mcg/ml	2.13867*	.373155	.001	.91058	3.36675
	1.67 mcg/ml	-5.36667*	.373155	.000	-6.59475	-4.13858
	2.33 mcg/ml	-8.51167*	.373155	.000	-9.73975	-7.28358
	3 mcg/ml	-12.49467*	.373155	.000	-13.72275	-11.26658
1.67 mcg/ml	0.33 mcg/ml	7.50533*	.373155	.000	6.27725	8.73342
	1 mcg/ml	5.36667*	.373155	.000	4.13858	6.59475
	2.33 mcg/ml	-3.14500*	.373155	.000	-4.37308	-1.91692
	3 mcg/ml	-7.12800*	.373155	.000	-8.35608	-5.89992
2.33 mcg/ml	0.33 mcg/ml	10.65033*	.373155	.000	9.42225	11.87842
	1 mcg/ml	8.51167*	.373155	.000	7.28358	9.73975
	1.67 mcg/ml	3.14500*	.373155	.000	1.91692	4.37308
	3 mcg/ml	-3.98300*	.373155	.000	-5.21108	-2.75492
3 mcg/ml	0.33 mcg/ml	14.63333*	.373155	.000	13.40525	15.86142
	1 mcg/ml	12.49467*	.373155	.000	11.26658	13.72275
	1.67 mcg/ml	7.12800*	.373155	.000	5.89992	8.35608
	2.33 mcg/ml	3.98300*	.373155	.000	2.75492	5.21108

*. Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

Persen Peredaman Vitamin E

Tukey HSD^a

KADAR	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
0.33 mcg/ml	3	33.12333				
1 mcg/ml	3		35.26200			
1.67 mcg/ml	3			40.62867		
2.33 mcg/ml	3				43.77367	
3 mcg/ml	3					47.75667
Significance		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means are displayed ...

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 7. Analisis Paired Sample T-Test

T-Test

Paired Stats...

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 Ekstrak Etanolik Daun Rambutan	40.10900	5	6.010244	2.687863
Vitamin E	42.56000	5	5.137530	2.297573

Paired Corr...

	N	Correlation	Significance
Pair 1 Ekstrak Etanolik Daun Rambutan and Vitamin E ...	5	.980	.003

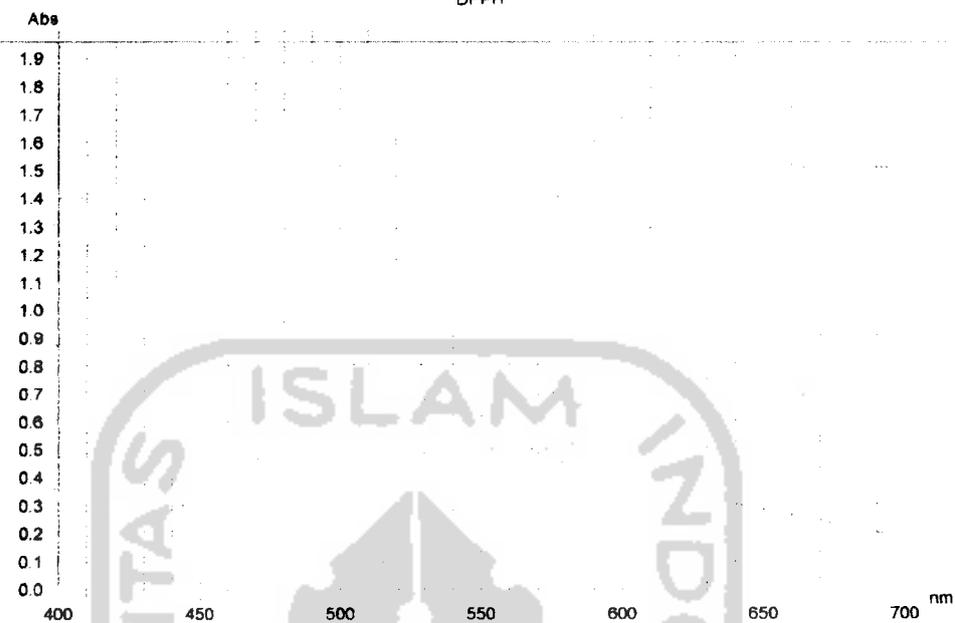
Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig(2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Ekstrak Etanolik Rambutan - Vitamin E	45100	1.408609	629949	-.20002	.70198	-3.891	4	.018

Lampiran 8. Lamda maksimum larutan DPPH 0,08 mM dalam etanol

Report Date: 11:15:02, 07/20/2007

DPPH



Sample: DPPH
 File name: Lamda max DPPH Evita Trias Amelina.UDS
 Run Date: 13:01:21, 05/28/2007
 Operator: Hartanto
 Comment: Penetapan Lamda Max Evita

Instrument Model: U-2800 Spectrophotometer
 Serial Number: 1
 ROM Version: 2501 11

Instrument Parameters
 Measurement Type: Wavelength Scan
 Data Mode: Abs
 Starting Wavelength: 700.0 nm
 Ending Wavelength: 400.0 nm
 Scan Speed: 400 nm/min
 Sampling Interval: 0.5 nm
 Slit Width: 1.50 nm
 Lamp change mode: Auto
 Auto change wavelength: 340.0 nm
 Baseline Correction: User 1
 Response: Medium
 Path Length: 10.0 mm
 (Abs values are corrected to 10 mm path length)

Lampiran 8 (lanjutan).

Peak Integration

Method: Rectangular
Sensitivity: 1
Threshold: 0.0100

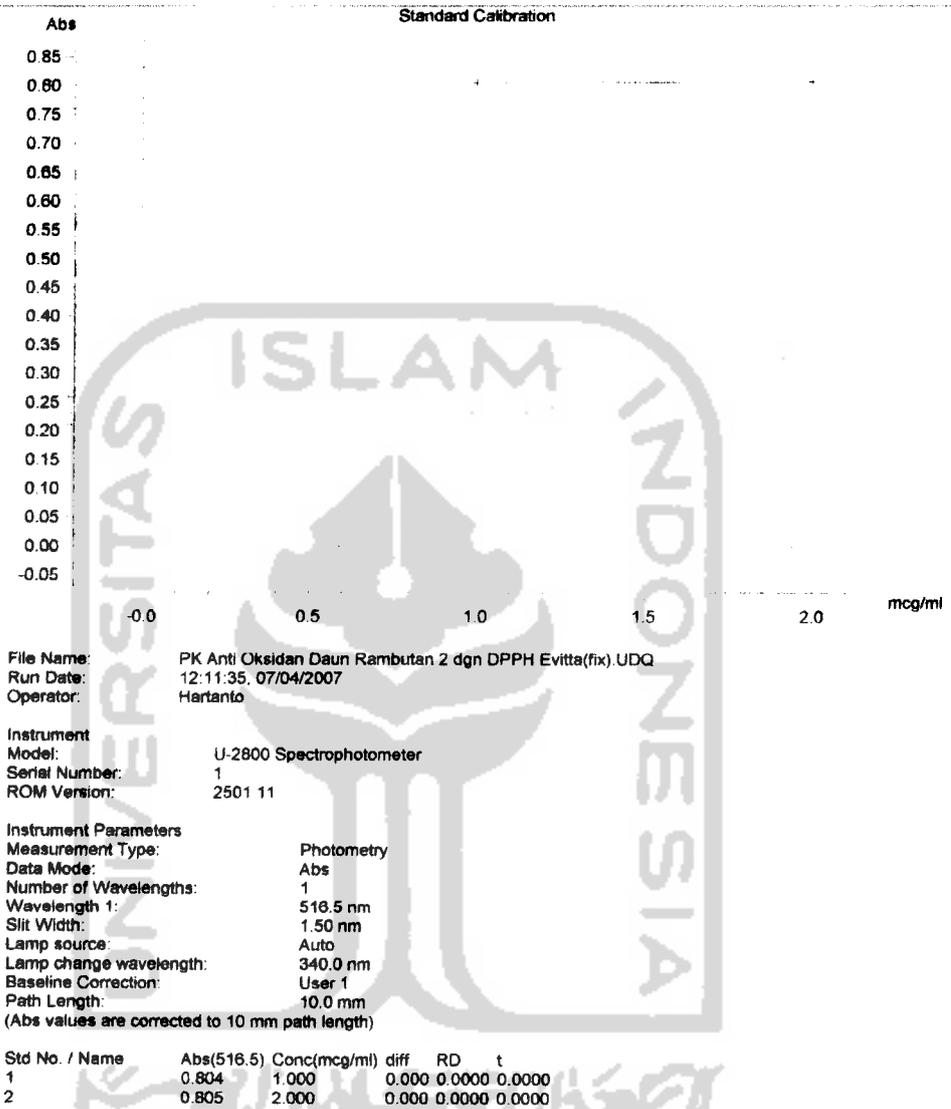
Peaks

Peak #	Start (nm)	Apex (nm)	End (nm)	Height (Abs)	Area (Abs*nm)	Valley (nm)	Valley
1	700.0	516.5	400.0	0.850	129.846	400.0	0.21C



Lampiran 9. Absorbansi ekstrak etanolik daun rambutan

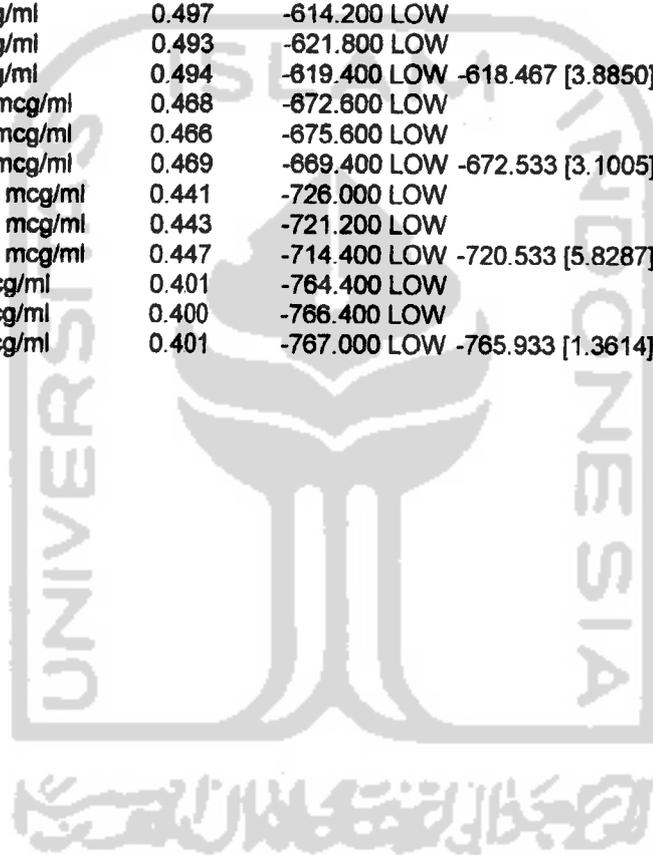
Report Date: 11:27:47, 07/20/2007



Lampiran 9 (lanjutan).

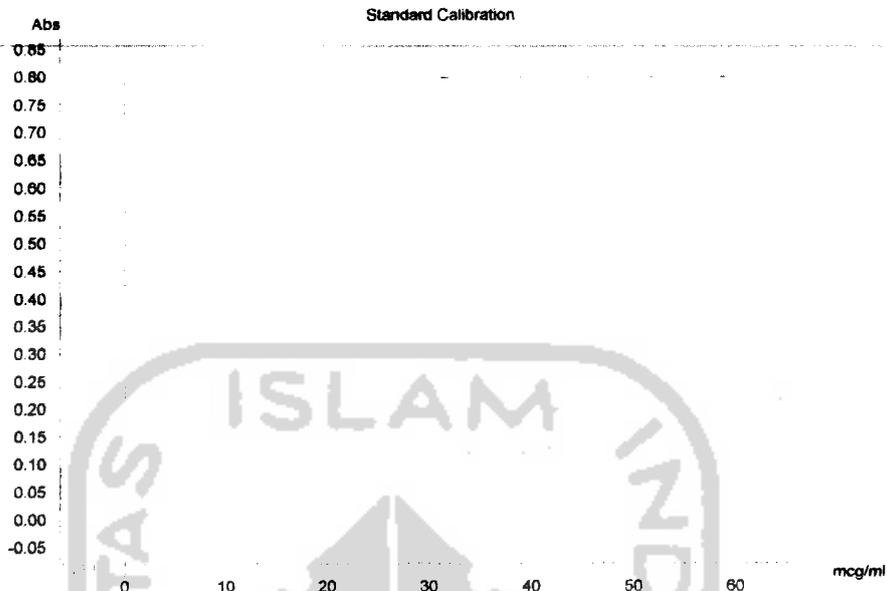
Calibration type:	1st order
Force curve through zero:	No
Start (mcg/ml):	1.000
End (mcg/ml):	2.000
A0:	0.8039
A1:	0.0005
R:	1.0000
R2:	1.0000

Samp No. / Name	Abs(516.5)	Conc(mcg/ml)	Avg Conc [SD][CV] (%)
1 R1 0,33 mcg/ml	0.503	-569.800 LOW	
2 R2 0,33 mcg/ml	0.501	-570.200 LOW	
3 R3 0,33 mcg/ml	0.503	-576.600 LOW	-572.200 [3.8158][-0.6669] LOW
4 R1 1 mcg/ml	0.497	-614.200 LOW	
5 R2 1 mcg/ml	0.493	-621.800 LOW	
6 R3 1 mcg/ml	0.494	-619.400 LOW	-618.467 [3.8850][-0.6282] LOW
7 R1 1.67 mcg/ml	0.468	-672.600 LOW	
8 R2 1.67 mcg/ml	0.466	-675.600 LOW	
9 R3 1.67 mcg/ml	0.469	-669.400 LOW	-672.533 [3.1005][-0.4610] LOW
10 R1 2.33 mcg/ml	0.441	-726.000 LOW	
11 R2 2.33 mcg/ml	0.443	-721.200 LOW	
12 R3 2.33 mcg/ml	0.447	-714.400 LOW	-720.533 [5.8287][-0.8089] LOW
13 R1 3 mcg/ml	0.401	-764.400 LOW	
14 R2 3 mcg/ml	0.400	-766.400 LOW	
15 R3 3 mcg/ml	0.401	-767.000 LOW	-765.933 [1.3614][-0.1777] LOW



Lampiran 10. Absorbansi Vitamin E

Report Date: 11:25:49, 07/20/2007



File Name: PK Anti Oksidan Vit.E dgn DPPH Evitta UDQ
 Run Date: 13.22:33, 06/28/2007
 Operator: Hartanto

Instrument Model: U-2800 Spectrophotometer
 Serial Number: 1
 ROM Version: 2501 11

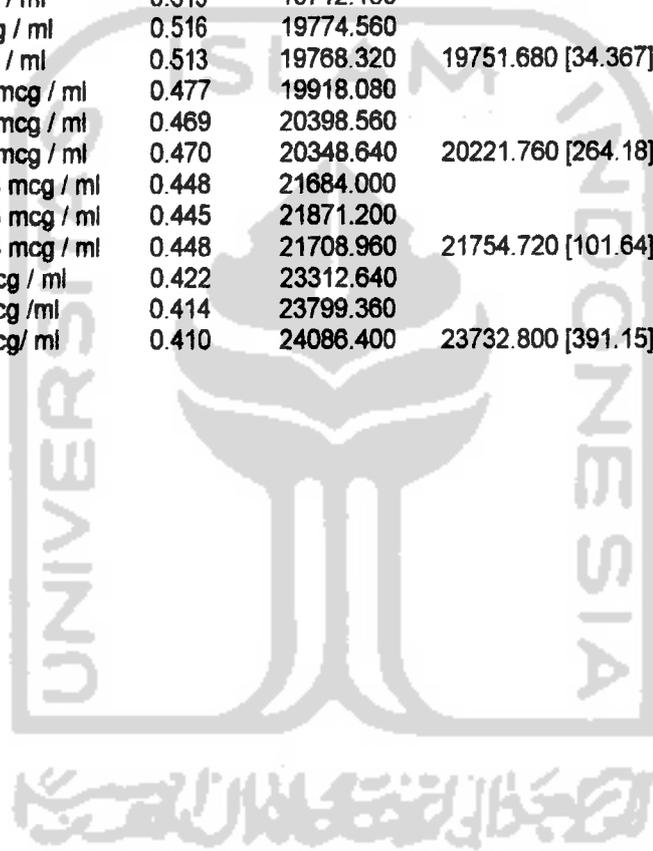
Instrument Parameters
 Measurement Type: Photometry
 Data Mode: Abs
 Number of Wavelengths: 1
 Wavelength 1: 516.5 nm
 Slit Width: 1.50 nm
 Lamp source: Auto
 Lamp change wavelength: 340.0 nm
 Baseline Correction: User 1
 Path Length: 10.0 mm
 (Abs values are corrected to 10 mm path length)

Std No. / Name	Abs(516.5)	Conc(mcg/ml)	diff	RD	t
1 std 1	0.795	31.200	0.000	0.0000	0.0000
2 std 2	0.795	62.400	0.000	0.0000	0.0000

Lampiran 10 (lanjutan).

Calibration type:	1st order
Force curve through zero:	No
Start (mcg/ml):	31.200
End (mcg/ml):	62.400
A0:	0.7958
A1:	0.0000
R:	1.0000
R2:	1.0000

Samp No. / Name	Abs(516.5)	Conc(mcg/ml)	Avg Conc [SD][CV] (%)
1 R1 0.33 mcg/ml	0.531	19955.520	
2 R2 0.33 mcg / ml	0.534	18239.520	
3 R3 0.33 mcg/ml	0.530	19587.360	19260.800 [903.41][4.6904]
4 R1 1 mcg / ml	0.515	19712.160	
5 R2 1 mcg / ml	0.516	19774.560	
6 R3 1mcg / ml	0.513	19768.320	19751.680 [34.367][0.1740]
7 R1 1.67 mcg / ml	0.477	19918.080	
8 R2 1.67 mcg / ml	0.469	20398.560	
9 R3 1.67 mcg / ml	0.470	20348.640	20221.760 [264.18][1.3064]
10 R1 2.33 mcg / ml	0.448	21684.000	
11 R2 2.33 mcg / ml	0.445	21871.200	
12 R3 2.33 mcg / ml	0.448	21708.960	21754.720 [101.64][0.4672]
13 R1 3 mcg / ml	0.422	23312.640	
14 R2 3 mcg /ml	0.414	23799.360	
15 R3 3 mcg/ ml	0.410	24086.400	23732.800 [391.15][1.6481]



Lampiran 11. Pembuatan dan penetapan λ maksimum larutan standar DPPH

Pembuatan larutan standar DPPH 0,08 mM

- Dibuat DPPH dengan konsentrasi 2 mM

BM DPPH = 394,3

$$\begin{aligned} 2 \times 10^{-3} M &= \frac{m}{BM} \times \frac{1}{V} \\ &= \frac{m}{394,3} \times \frac{100}{1000} \text{ ml} \\ &= 788,6 \text{ mg}/1000 \text{ ml} \\ &= 79 \text{ mg}/100 \text{ ml} \end{aligned}$$

Ditimbang DPPH 79 mg dilarutkan dengan 100 ml etanol *pro analysis* (pa).

- Ambil 2 ml larutan DPPH 2 mM dan encerkan dalam labu takar 50 ml dengan etanol pa, sehingga diperoleh kadar 0,08 mM.

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$2 \text{ ml} \times 2 \text{ mM} = 50 \times M_2$$

$$M_2 = 0,08 \text{ mM}$$



Lampiran 12. Perhitungan ekstrak etanolik daun rambutan

Dibuat larutan stok 1 mg/ml dengan melarutkan 10 mg ekstrak dengan etanol pa hingga volume 10 ml, kemudian dibuat pengenceran agar diperoleh konsentrasi 0,01 mg/ml dengan perhitungan:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1 \text{ mg/ml} = 25 \text{ ml} \times 0,01 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan di atas, larutan stok dengan konsentrasi 0,01 mg/ml dibuat dengan cara dengan mengambil 0,25 ml larutan stok ekstrak 1 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 25 ml.

➤ Selanjutnya dibuat seri kadar 1, 3, 5, 7, dan 9 µg/ml dengan perhitungan sbb:

1) Kadar 1 µg/ml = 0,001 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,001 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 0,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

2) Kadar 3 µg/ml = 0,003 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,003 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 1,50 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 1,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

3) Kadar 5 µg/ml = 0,005 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,005 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 2,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

4) Kadar 7 µg/ml = 0,007 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,007 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 3,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 3,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

Lampiran 12 (lanjutan).

5) Kadar 9 $\mu\text{g/ml}$ = 0,009 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,009 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 4,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 4,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

Setiap seri kadar ekstrak etanolik daun rambutan diambil 1,5 ml kemudian ditambah DPPH 0,08 mM sebanyak 3 ml sehingga volume campuran menjadi 4,5 ml.

➤ Kadar ekstrak setelah penambahan DPPH adalah sebagai berikut:

1) Kadar 1 $\mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,001 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 3,33 \times 10^{-4} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 0,33 \mu\text{g/ml}$$

2) Kadar 3 $\mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,003 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 1 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 1 \mu\text{g/ml}$$

3) Kadar 5 $\mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,005 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 1,67 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 1,67 \mu\text{g/ml}$$

4) Kadar 7 $\mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,007 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 2,33 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 2,33 \mu\text{g/ml}$$

5) Kadar 9 $\mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,009 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 3 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 3 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 13. Perhitungan Vitamin E

Dibuat larutan stok 1 mg/ml dengan melarutkan 10 mg vitamin E dengan etanol pa hingga volume 10 ml, kemudian dibuat pengenceran agar diperoleh konsentrasi 0,01 mg/ml dengan perhitungan:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1 \text{ mg/ml} = 25 \text{ ml} \times 0,01 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan di atas, larutan stok dengan konsentrasi 0,01 mg/ml dibuat dengan cara dengan mengambil 0,25 ml larutan stok vitamin E 1 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 25 ml.

➤ Selanjutnya dibuat seri kadar 1, 3, 5, 7, dan 9 µg/ml dengan perhitungan sbb:

1) Kadar 1 µg/ml = 0,001 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,001 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 0,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

2) Kadar 3 µg/ml = 0,003 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,003 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 1,50 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 1,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

3) Kadar 5 µg/ml = 0,005 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,005 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 2,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

4) Kadar 7 µg/ml = 0,007 mg/ml

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,007 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 3,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 3,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

5) Kadar $9 \mu\text{g/ml} = 0,009 \text{ mg/ml}$

$$V_1 \times 0,01 \text{ mg/ml} = 5 \text{ ml} \times 0,009 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 4,5 \text{ ml}$$

Larutan dibuat dengan cara mengambil 4,5 ml larutan stok 0,01 mg/ml kemudian ditambah dengan etanol pa hingga volume 5 ml.

Setiap seri kadar vitamin E diambil 1,5 ml kemudian ditambah DPPH 0,08 mM sebanyak 3 ml sehingga volume campuran menjadi 4,5 ml.

➤ Kadar vitamin E setelah penambahan DPPH adalah sebagai berikut:

1) Kadar $1 \mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,001 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 3,33 \times 10^{-4} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 0,33 \mu\text{g/ml}$$

2) Kadar $3 \mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,003 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 1 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 1 \mu\text{g/ml}$$

3) Kadar $5 \mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,005 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 1,67 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 1,67 \mu\text{g/ml}$$

4) Kadar $7 \mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,007 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 2,33 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 2,33 \mu\text{g/ml}$$

5) Kadar $9 \mu\text{g/ml}$

$$1,5 \text{ ml} \times 0,009 \text{ mg/ml} = 4,5 \text{ ml} \times M_2$$

$$M_2 = 3 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar} = 3 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 14. Perhitungan persen peredaman dan harga ES₅₀ ekstrak etanolik daun rambutan dengan pembanding vitamin E

1) Perhitungan persen peredaman dan harga ES₅₀ ekstrak daun rambutan

a) Perhitungan persen peredaman ekstrak etanolik daun rambutan

Contoh pada kadar 0,33 µg/ml, replikasi 1

Absorbansi kontrol = 0,804

$$\begin{aligned} \% \text{ peredaman} &= \frac{\text{absorbansi standar} - \text{absorbansi bahan uji}}{\text{absorbansi standar}} \times 100\% \\ &= \frac{0,804 - 0,503}{0,804} \times 100 \% \\ &= 37,438 \% \end{aligned}$$

Di bawah ini adalah perhitungan persen peredaman (aktivitas antioksidan) ekstrak etanolik daun rambutan dengan 3 replikasi setiap kadarnya:

Kadar ekstrak (µg/ml)	Absorbansi	% peredaman	Rata-rata % peredaman
0,33	0,503	37,438	37,521
	0,501	37,668	
	0,503	37,438	
1	0,497	38,184	38,474
	0,493	38,681	
	0,494	38,557	
1,67	0,468	41,791	41,822
	0,466	42,039	
	0,469	41,667	
2,33	0,441	45,149	44,817
	0,443	44,900	
	0,447	44,403	
3	0,401	50,124	50,166
	0,400	50,249	
	0,401	50,124	

Lampiran 14 (lanjutan).

b) Perhitungan harga ES_{50}

Di persamaan garis regresi linear antara kadar ekstrak dan persen peredaman diperoleh: $y = 4,742x + 34,660$

$$r = 0,973$$

$$ES_{50} = 3,235 \mu\text{g/ml}$$

Dimana x = kadar ekstrak setelah peredaman ($\mu\text{g/ml}$)

y = persen peredaman ekstrak (%)

2) Perhitungan persen peredaman dan harga ES_{50} vitamin E

a) Perhitungan persen peredaman vitamin E

Contoh pada kadar $0,33 \mu\text{g/ml}$, replikasi 1

Absorbansi kontrol = 0,795

$$\begin{aligned} \% \text{peredaman} &= \frac{\text{absorbansi standar} - \text{absorbansi bahan uji}}{\text{absorbansi standar}} \times 100\% \\ &= \frac{0,795 - 0,531}{0,795} \times 100\% \\ &= 33,207\% \end{aligned}$$

Di bawah ini adalah perhitungan persen peredaman (aktivitas antioksidan) vitamin E dengan 3 replikasi setiap kadarnya:

Kadar ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% peredaman	Rata-rata % peredaman
0,33	0,531	33,207	33,123
	0,534	32,830	
	0,530	33,333	
1	0,515	35,220	35,262
	0,516	35,094	
	0,513	35,472	
1,67	0,477	40,000	40,629
	0,469	41,006	
	0,470	40,880	
2,33	0,448	43,648	43,774
	0,445	44,025	
	0,448	43,648	
3	0,442	46,918	47,757
	0,414	47,924	
	0,410	48,428	

Lampiran 14 (lanjutan).

b) Perhitungan harga ES_{50}

Di persamaan garis regresi linear antara kadar vitamin E dan persen peredaman diperoleh: $y = 5,664x + 30,672$

$$r = 0,994$$

$$ES_{50} = 3,412 \mu\text{g/ml}$$

Dimana x = kadar vitamin E setelah peredaman ($\mu\text{g/ml}$)

y = persen peredaman vitamin E (%)

