

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
KULIT BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)  
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH SECARA  
SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

**SKRIPSI**



**Diajukan Oleh :**

**ARIF SETIADI TAMIMY**

**02613098**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
JOGJAKARTA  
SEPTEMBER 2006**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
KULIT BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum L.*)  
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH SECARA  
SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi  
(S.Farm)  
Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia  
Jogjakarta



Oleh:  
**ARIF SETIADI TAMIMY**  
02613098

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
JOGJAKARTA  
SEPTEMBER 2006**

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
KULIT BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum L.*)  
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH SECARA  
SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

Yang diajukan oleh :

**ARIF SETIADI TAMIMY**

**02613098**

Telah disetujui oleh:

**Pembimbing Utama,**

**Pembimbing Pendamping,**

  
**Dra. Suparmi, M.Si., Apt**

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

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
KULIT BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum L.*)  
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH SECARA  
SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

Oleh :

**ARIF SETIADI TAMIMY**

**02613098**

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

Tanggal : 20 September 2006

Ketua Penguji,

  
**Dra. Suparni, M.Si., Apt**

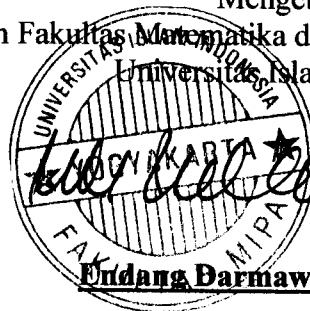
Anggota penguji,

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

Anggota penguji,

  
**Abdul Rohman, S.F., M.Si., Apt**

Mengetahui  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia



  
**Endang Darmawan, M.Si., Apt**

## 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.



Jogjakarta, September 2006

Penulis,

Arif Setiadi Tamimy

## *HALAMAN PERSEMBAHAN*



*Skripsi ini kupersembahkan untuk:  
Ayahnda dan ibundaku yang tercinta,  
doa dan dukungannya  
tempat aku merasakan cinta  
Adikku tersayang yang selalu perhatian dan pengertian*

*Untuk keluarga bapak Suryadi Husein, yang selama ini  
telah menjadi orang tua kedua di jogja,*

*Sahabat-sahabatku Yulia Yhie-yhie, Wida, Dian, Bambang, Benk, Ana molen, RR Friska,  
Erwin-Tiwi, Bayu,, Qnoy, Eko, Sukron, Babeh, Tito, Unik, Wina,  
Rohmawati Cipenk, Pakde, Andi, Anto, Gusti, Anggun, Ana bel, Yudi, Ayu, Tika  
For all my friends Thanks for your supports, I'll never forget our friendship*

## KATA PENGANTAR



Puji syukur senantiasa kita tujukan kehadirat Allah SWT, atas segala karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum L.*) Terhadap Peredaman Radikal Bebas DPPH Secara Spektrofotometri Sinar Tampak”**.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan guna memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini telah banyak yang memberikan bantuan yang berguna bagi penulis. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan kepada yang terhormat :

1. Dra. Suparmi, M.Si., Apt selaku dosen Pembimbing yang telah memberi masukan, bimbingan dan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Hady Anshory, S.Si., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan dan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Abdul Rohman S.F., M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran, masukan dan koreksi yang berguna bagi skripsi ini.
4. Endang Darmawan, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
5. Seluruh pengajar Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan begitu banyak bekal ilmu kepada penulis.
6. *Leopard* sebagai sebuah kesatuan yang senantiasa kokoh dan selalu bersemangat untuk menggapai masa depan.
7. Bapak Suryadi Husein, Ibu Tugiwati, Desy Suryalita, Melina selaku keluarga induk semang tempat penulis berteduh.

8. Teman se-kost penulis : Arif nDut, Riko, Tobrie, Andi, Danang dangdut, Izar, Dani bule, Oka (Jeparaguay) Riyan, Mas Fiant, Igun parto, Roen Syip, Roeli 'aja ngece', Mas Benk, Firman, Adit
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, atas kontribusinya selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Akhirnya dengan keterbatasan penulis, sebagai manusia biasa menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini. Namun demikian penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi pihak yang memerlukan. Amin

Yogyakarta, September 2006

Arif Setiadi Tamimy





## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
<i>ABSTRACT</i> .....	xiv
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
<b>BAB II. STUDI PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
A. Tinjauan pustaka.....	4
1. Rambutan.....	4
2. Flavonoid.....	7
3. Ekstraksi tanaman.....	12
4. Spektrofotometri.....	14
5. Kromatografi lapis tipis.....	18
6. Radikal bebas.....	21
7. DPPH ( <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> ).....	25
8. Vitamin E ( <i>α tokoferol</i> ).....	27
B. Keterangan empiris.....	29
<b>BAB III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>30</b>
A. Bahan dan alat.....	30
B. Alur penelitian.....	30

C. Analisis penelitian.....	32
BAB IV. PEMBAHASAN.....	34
A. Determinasi dan ekstraksi tanaman.....	34
B. Identifikasi kimia dan KLT.....	35
C. Uji aktifitas antioksidan.....	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
A. Kesimpulan.....	42
B. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43

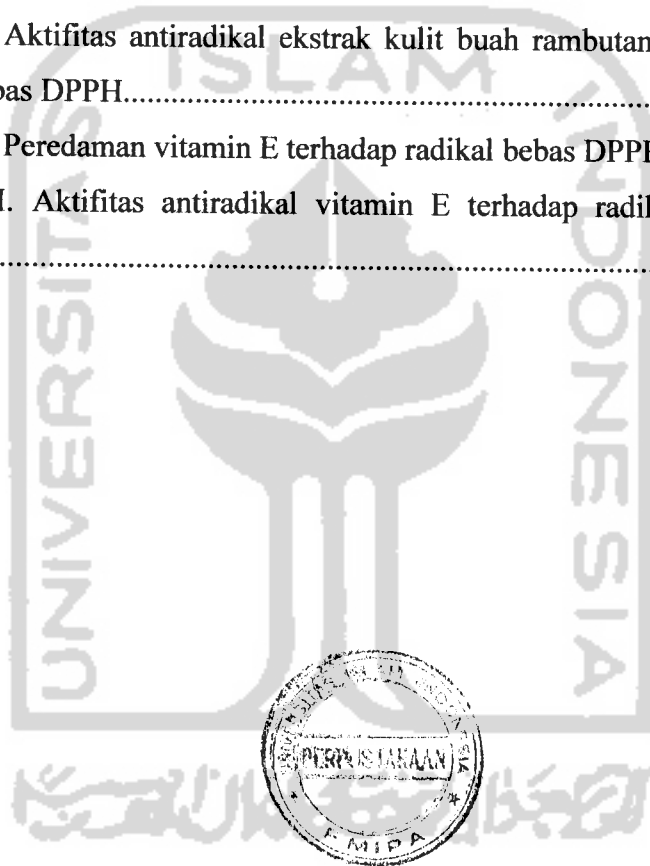


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambar 1. Rambutan.....	4
2. Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid serta penomorannya.....	8
3. Gambar 3. Penggolongan atau tipe-tipe flavonoid.....	9
4. Gambar 4. Reaksi pembentukan kompleks flavonoid dengan sitoborat.....	10
5. Gambar 5. Uji flavonoid dengan pereaksi alumunium klorida.....	10
6. Gambar 6. Spektrofotometer.....	16
7. Gambar 7. Struktur DPPH.....	26
8. Gambar 8. Struktur Vitamin E.....	28
9. Gambar 9. Hasil kromatogram ekstrak dan pembanding flavonoid.....	36
10. Gambar 10. Kurva perbandingan persen peredaman antara ekstrak etanol kulit buah rambutan dan vitamin E terhadap DPPH.....	40
11. Gambar 11. Reaksi peredaman suatu flavonoid dengan radikal bebas DPPH.....	41

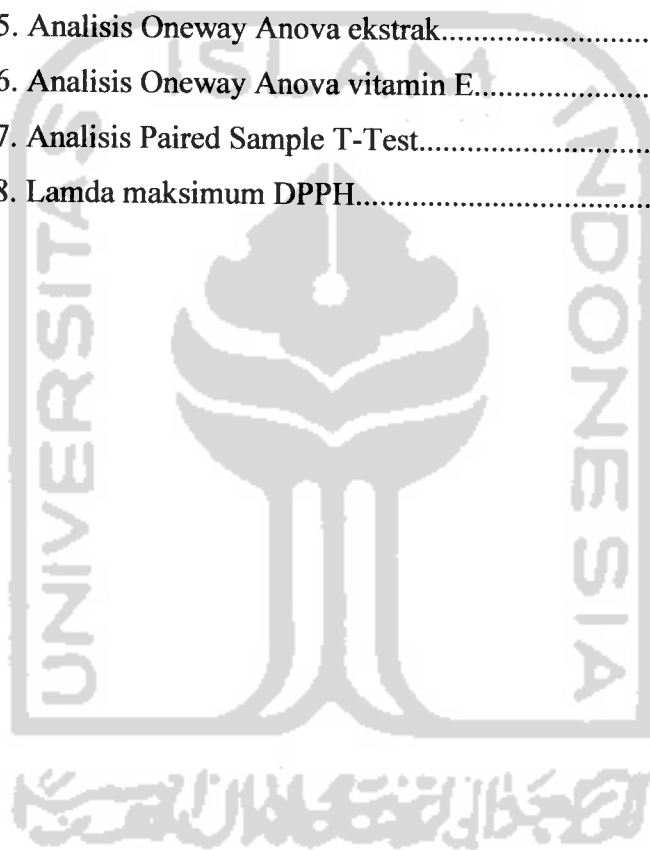
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tabel I. Kandungan gizi buah rambutan dalam 100 g.....	7
2. Tabel II. Hasil identifikasi kimia ekstrak etanol kulit buah rambutan.....	34
3. Tabel III. Hasil pembacaan warna bercak KLT ekstrak.....	34
4. Tabel IV. Hasil pembacaan warna bercak KLT pembanding (rutin).....	36
5. Tabel V. Peredaman ekstrak kulit buah rambutan terhadap radikal bebas DPPH.....	37
6. Tabel VI. Aktifitas antiradikal ekstrak kulit buah rambutan terhadap radikal bebas DPPH.....	38
7. Tabel VII. Peredaman vitamin E terhadap radikal bebas DPPH.....	38
8. Tabel VIII. Aktifitas antiradikal vitamin E terhadap radikal bebas DPPH.....	39



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Lampiran 1. Pohon rambutan (i) dan serbuk kulit buah rambutan (ii)....	48
2. Lampiran 2. Surat keterangan determinasi.....	49
3. <b>Lampiran 3. Alat soklet (i) dan hasil kromatogram ekstrak (ii).....</b>	<b>50</b>
4. <b>Lampiran 4. Larutan DPPH (i) dan larutan DPPH yang sudah teredam oleh antioksidan (ii) .....</b>	<b>51</b>
5. Lampiran 5. Analisis Oneway Anova ekstrak.....	52
6. Lampiran 6. Analisis Oneway Anova vitamin E.....	54
7. Lampiran 7. Analisis Paired Sample T-Test.....	56
8. Lampiran 8. Lamda maksimum DPPH.....	57



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
KULIT BUAH RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum L.*)  
TERHADAP PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DPPH SECARA  
SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK**

**INTISARI**

Rambutan adalah salah satu buah yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai makanan pelengkap dan juga untuk keperluan pengobatan. Kulit buah 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 etanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*). Penentuan aktivitas antioksidan ini dari kapasitas peredaman terhadap radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) pada spektrofotometri sinar tampak. Seri konsentrasi ekstrak dan vitamin E ( $\alpha$ -*tokoferol*) yang digunakan adalah 0.66  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$ , 1.33  $\mu\text{g/ml}$ , 1.66  $\mu\text{g/ml}$ , 2  $\mu\text{g/ml}$ . Peningkatan konsentrasi ekstrak dan vitamin E menyebabkan semakin besar peredaman radikal bebas DPPH. Besarnya peredaman radikal bebas DPPH dihitung berdasarkan harga absorbansi yang diamati pada  $\lambda$  521 nm. Perhitungan menggunakan persamaan regresi linier diperoleh hasil nilai  $\text{EC}_{50}$  ekstrak dan vitamin E berturut-turut adalah sebesar 1.62  $\mu\text{g/ml}$ ; 2.91  $\mu\text{g/ml}$ . Dari data ini terlihat kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH lebih besar daripada vitamin E.

**Kata kunci :** Rambutan, antioksidan, DPPH radikal bebas

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF  
RAMBUTAN PERICARP (*Nephelium lappaceum L.*) THROUGH THE  
SCAVENGING FREE RADICAL DPPH USING VISIBLE  
SPECTROPHOTOMETRY**

**ABSTRACT**

Rambutan fruits are used by people for additional food and medical use. Pericarp 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 ethanol extract of rambutan pericarp (*Nephelium lappaceum L.*). Antioxidant activity was carried out by using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method using spectrophotometry. The extract and vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) concentration was made in the final concentration 0.66  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$ , 1.33  $\mu\text{g/ml}$ , 1.66  $\mu\text{g/ml}$ , 2  $\mu\text{g/ml}$  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  $\lambda$  521 nm. From linier regression the results show that  $\text{EC}_{50}$  extract and vitamin E sequence 1.62  $\mu\text{g/ml}$ ; 2.91  $\mu\text{g/ml}$ , the result showed that anti radical activity of ethanolic extract of rambutan pericarp is higher than vitamin E.

**Keywords :** Rambutan, antioxidant, free radical DPPH

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Menjadi tua adalah suatu proses alami yang tak dapat dihindarkan dan berlangsung secara terus-menerus yang ditandai pada perubahan sel-sel tubuh. Di usia memasuki 40-an tahun, seseorang akan mengalami ini secara nyata. Kulit mulai tampak berkeriput dan kering sebab produksi kelenjar keringat kulit mulai menurun. Kemudian, diikuti proses pigmentasi kulit makin meningkat dan rambut mulai menampakkan uban. Gejala negatif lainnya adalah stres, penyakit jantung, katarak dan perubahan kejiwaan yang makin merosot. Penyakit jantung akan makin cepat bersemayam dalam tubuh jika seseorang kerap mengalami kondisi stres yang akan merangsang peningkatan kolesterol darah khususnya LDL sehingga akan lebih beresiko terhadap penyakit jantung koroner (Sibuea, 2003).

Para peneliti Universitas Washington melakukan percobaan berdasarkan asumsi bahwa molekul-molekul oksigen dalam tubuh yang sangat reaktif atau sering disebut radikal bebas menjadi penyebab penuaan. Radikal bebas berkaitan dengan penyakit liver, kanker, dan penyakit lain yang muncul dengan bertambahnya usia. Radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan pada proses kimia sel. Bahkan radikal bebas yang berlebih menimbulkan siklus mematikan (Anonim, 2005).

Para ahli pangan, gizi dan kesehatan menyebutkan polusi udara dan makanan berlemak dapat menjadi sumber radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas yaitu suatu molekul atau atom apa saja yang sangat tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tak berpasangan. Radikal bebas ini berbahaya karena amat reaktif mencari pasangan elektronnya. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya jumlahnya terus bertambah. Selanjutnya akan menyerang sel-sel tubuh kita sehingga terjadilah kerusakan jaringan yang akan mempercepat proses penuaan (Sibuea, 2003). Selaput terluar sel yang mengandung bahan lemak seperti kolesterol, khususnya sangat rentan terhadap kerusakan akibat oksidasi dari radikal bebas. Peningkatan produksi radikal bebas



seperti ini dan kerusakan yang ditimbulkan oleh efek kumulatif dari pengaruh lingkungan atau dari kurangnya antioksidan tubuh, mungkin ada hubungannya dengan berkurangnya aktivitas antioksidan alami yang terkait usia (Youngson, 1998).

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).

Antioksidan, zat yang dalam kadar rendah mampu menghambat laju oksidasi molekuler target, sering disebut sebagai senyawa ajaib karena dapat menangkal penuaan dini dan beragam penyakit yang menyertainya. Senyawa yang bersemayam dalam buah, sayur, ikan, rempah-rempah dan biji-bijian ini dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal bebas dalam tubuh yang diyakini sebagai dalang penuaan dini (Sibuea, 2003) menurut Halliwell dan Gutteridge (2000) dapat mencegah penyakit-penyakit yang seperti karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif atau nitrogen reaktif (ROS/RNS).

Para ilmuwan percaya bahwa konsumsi buah dan sayur dapat menurunkan resiko kanker karena buah dan sayur banyak mengandung antioksidan vitamin, seperti vitamin C, vitamin E dan beta karoten (Lestario, 2003)

Senyawa-senyawa 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).

Beberapa flavonoid diketahui mempunyai efek anti radikal bebas atau antioksidan, seperti pada bunga *Cephalaria pastricensis* (Godjevac, 2004). Juga pada ekstrak daun *Solanum Pseudocapsicum* (Badami, 2005). Ekstrak *Aloe vera* berkemampuan menghambat oksigen aktif seperti oksigen singlet (Esteban *et al*, 2000). Ekstrak daun dewa (Windono, 2004) ekstrak mengkudu (Rohman, 2005)

dan ekstrak etanol dari daun kemangi (Widyawati, 2005) ternyata mempunyai aktivitas antioksidan. Kemudian *Teucrium* (spesies: *Lamiaceae*) mempunyai aglikon flavon yang mampu meredam radikal bebas (Panovska, 2005), buah duwet juga ternyata mempunyai aktivitas antioksidan (Lestario, 2003), *purple carrots* yang telah diteliti di Turki juga mempunyai aktivitas antioksidan (Uyan, 2004)

Rambutan adalah salah satu buah yang sering digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan. Buah mengandung karbohidrat, protein, lemak, besi, fosfor, kalsium dan vitamin C. Bij mengandung lemak dan polifenol. Daun mengandung tanin dan saponin. Kulit buah mengandung flavonoid, tanin dan saponin (Dalimartha, 2003), juga mengandung antosianin yang diduga sebagai pigmen yang membuat kulitnya berwarna merah tua (Wijaya, 2001). Kulit buah tersebut masih kurang dimanfaatkan dan hanya dibuang begitu saja setelah buahnya dikonsumsi. Berdasarkan beberapa hal tersebut maka sangat menarik dilakukan pengkajian kemampuan antioksidan ekstrak etanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) secara in-vitro ditinjau dari kapasitas peredaman terhadap radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dengan pembandingan vitamin E ( *$\alpha$ -tokoferol*) pada spektrofotometri sinar tampak.

### **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol kulit buah rambutan mempunyai efek antioksidan ditinjau dari kapasitas peredaman radikal bebas.
2. Berapakah nilai *effective concentration* 50 dari ekstrak etanol kulit buah rambutan dan vitamin E.

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) dengan pembandingan vitamin E ( *$\alpha$ -tokoferol*) pada spektrofotometri sinar tampak ditinjau dari kapasitas peredaman radikal bebas.

## BAB II STUDI PUSTAKA

### A. Tinjauan Pustaka

#### 1. Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Angiospermae

Bangsa : Sapindales

Suku : Sapindaceae

Jenis : *Nephelium lappaceum* L.

(Tjitrosoepomo, 1993)



Gambar 1. Rambutan (T. Zee, 1995)

Sinonim :

Inggris : rambutan

Spanyol : rambután (ramustan)

Perancis : ramboutan, litchi chevelu

Jerman : rambutan

Philipina : rambutan, usan

Kamboja : saaw maaw, ser mon

Thailand : ngoh, phruan  
 Vietnam : chôm chôm, vai thiêu  
 China : Shao tzu  
 (Anonim, 2003)

Nama daerah :

- (1) Sumatera : ranbutan, rambot, rambut, rambut, rambuteun, rambuta, jailan, folui, bairabit, puru biancak, p.biawak,hahujam, kakapas, likis, takujung alu.
- (2) Jawa : rambutan, corogol, tundun, bunglon, buwa buluwan.
- (3) Nusa Tenggara : buluan, rambuta.
- (4) Kalimantan : Rambutan, siban, banamon, beriti, sanggalaong,sagalong, beliti, maliti, kayokan, bengayau, puson.
- (5) Sulawesi : rambutan, rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wayatu, wilatu, wulangas, lelamu, lelamun, toleang.
- (6) Maluku : rambutan, rambuta.

Nama Simplisia :

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

#### a. Uraian tumbuhan

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. Helai 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 february. Ada banyak jenis rambutan, seperti ropiah, simacan, sinyonya, lebak bulus dan binjei. Perbanyak 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) (Dalimartha, 2003).

#### **c. Kandungan Kimia.**

Buah mengandung karbohidrat, protein, lemak, fosfor, besi, kalsium, dan vitamin C. Kulit buah mengandung tanin dan saponin. Kulit batang mengandung tanin, saponin, Flavonoida, pectic substances, dan zat besi (Dalimartha, 2003). Sebanyak 100 g sampel buah rambutan terdiri dari 82.1% air, 0.9% protein, 0.3% lemak, 0.3% abu, 2.8 g glukosa, 3.0 g fruktosa, 9.9 g sukrosa, tanpa starch, 2.8 g serat, 0.05% asam malat, 0.31% asam sitrat, 0.5 mg niasin, 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 potassium, 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 arachidat (34.7%), oleat (45.3%), stearat (13.8%), ericosenoat (4.2%) dan palmitat (2%), dan gliserida tersaturasi 1.4% (Zee, 1995).

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

Moisture	82.3 g
Protein	0.46 g
Karbohidrat total	16.02 g
Gula redoksi	2.9 g
Sukrosa	5.8 g
Serat	0.24 g
Kalsium	10.6 mg
Phosphor	12.9 mg
Asam askorbat	30 mg

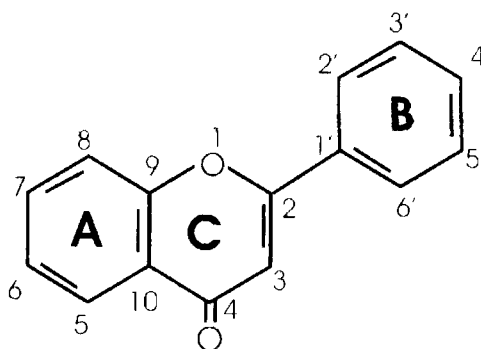
#### **d. Pemanfaatan**

Bagian tanaman yang digunakan adalah kulit buah, kulit kayu, daun, biji, dan akarnya (Dalimartha, 2003). 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). 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. 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. Hanya sedikit saja catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada tumbuhan. 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 menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C, serta angka "aksen" untuk cincin B (Markham, 1988).



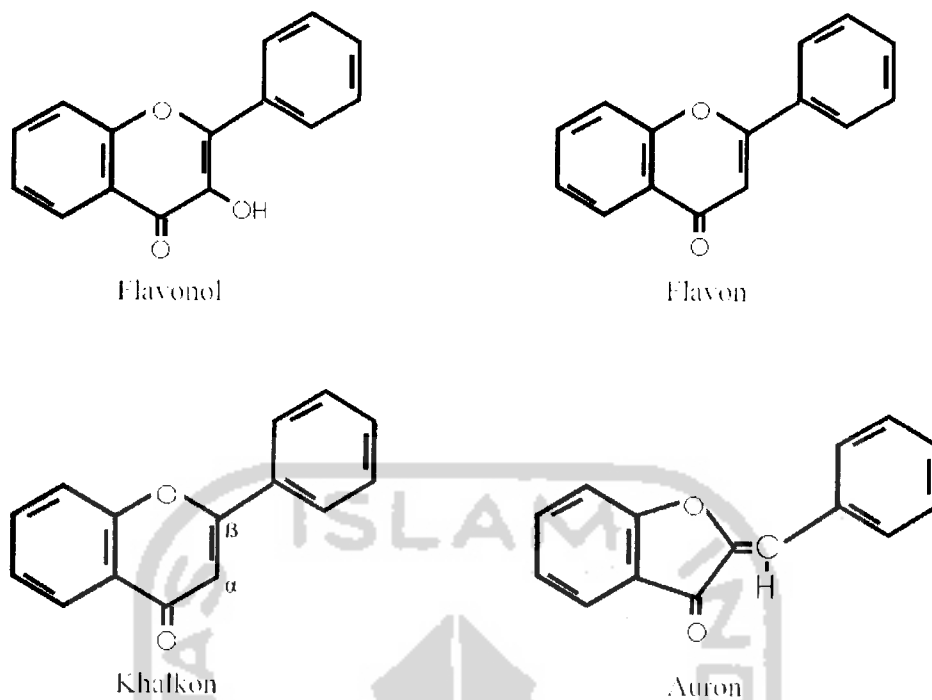
**Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid serta penomorannya (Markham, 1988).**

### **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 kromatografi 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. Gugus hidroksil biasanya terdapat pada cincin aromatik atau tergabung sebagai gugus metoksil atau glikosida (Robinson, 1995).





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

### c. Isolasi flavonoid

Pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan terutama dilakukan dengan menggunakan beberapa metode kromatografi (Harborne, 1996). Kromatografi kertas adalah cara paling umum digunakan untuk analisis pendahuluan ekstrak tumbuhan untuk menguji adanya flavonoid (Markham, 1988)

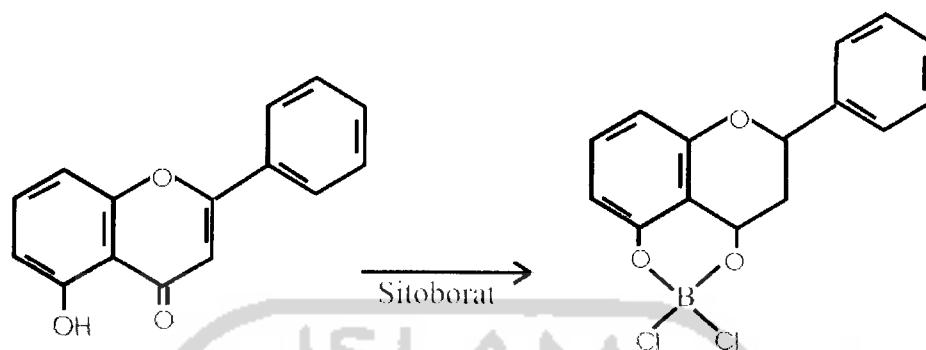
Metode kromatografi lain untuk pemisahan senyawa flavonoid adalah KLT. Nilai utama KLT adalah sebagai cara analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit. Penyerap dan pengembang yang digunakan umumnya sama dengan penyerap dan pengembang yang digunakan pada kromatografi kertas dan cara mendeteksi 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

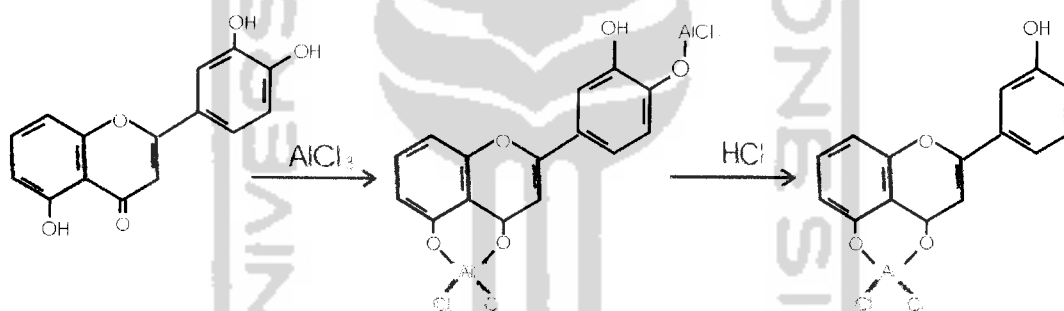


memberikan warna orange atau coklat, warna merah dan warna lembayung yang terjadi mendadak karena suasana asam disebabkan adanya khalkon atau auron (Robinson, 1995).



**Gambar 4. Reaksi pembentukan kompleks flavonoid dengan sitoborat (Robinson, 1995).**

Flavonoid akan membentuk kompleks bila direaksikan dengan sitoborat, seperti dalam gambar diatas.



**Gambar 5. Uji flavonoid dilakukan dengan pereaksi alumunium klorida membentuk kompleks yang berwarna kuning (Robinson, 1995).**

Flavonoid membentuk warna bila direaksikan dengan besi (III) klorida sebab flavonoid merupakan senyawa fenol, tetapi tidak dapat dipakai untuk membedakan macam-macam golongannya. 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 merah menghasilkan warna pekat pada flavonol, flavonon, flavonol dan xanton. Falkon dan auron memberikan warna merah segera setelah penambahan asan bahkan peningkatan intensitas warna secara perlahan-lahan ketika reduksi

berlangsung. Flavon menghasilkan sedikit warna tetapi intensitasnya jauh lebih rendah daripada flavonolol (Robinson, 1995).

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. Disamping 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 sangat sedikitnya jumlah flavonoid yang diperlukan untuk analisis lengkap (biasanya sekitar 0,1 mg). Dalam praktek hanya sedikit saja 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 AR (*analytical reagent*/pereaksi analisis), 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).

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 alkoheolik. 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, karoten 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).

### 3. Ekstraksi Tanaman

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

Metode penyarian merupakan salah satu bagian dari isolasi bahan alam. Metode dasar penyarian adalah maserasi, perkolasi, dan sokletasi. Kemudian bisa juga dengan infundasi (Anonim, 1986). Pemilihan terhadap metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik. Pada metode penyarian dengan alat sokhlet, bahan yang akan diekstraksi berada dalam sebuah kantong ekstraksi dalam sebuah kantong ekstraksi di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara kontinu (Voight, 1984).

Kemudian dilusi dengan pelarut yang cocok sedemikian rupa sehingga terjadi 2 kali sirkulasi dalam  $\pm 30$  menit. Pada cara ini dibuat sedikit pelarut juga bahan yang secara terus menerus dapat diperbaharui artinya dimasukkan bahan pelarut bebas bahan aktif, tetapi dalam metode ini dibutuhkan suatu ekstraksi yang cukup lama dan kebutuhan energi meningkat (Voight, 1984).

#### a. Metode maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengestraksi. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan hasil pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1995). ?

### **b. Cara perkolasi**

Istilah berasal dari bahasa latin *percolare*, *per* yang artinya "melalui" dan *colare* yang artinya "merembes" (Ansel, 1989). Secara umum perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhausted extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh perkolat yang jumlahnya satu sampai lima kali bahan. Atau perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi (Anonim, 1986).

### **c. Cara sokletasi**

Soklet merupakan alat ekstraksi dengan penyarian berkesinambungan. Penyarian berkesinambungan menggabungkan dua proses. Uap cairan penyari naik ke atas melalui pipa samping. Kemudian diembunkan kembali oleh pendingin balik dan oleh pendingin tegak. Cairan turun ke labu melalui tabung yang berisi serbuk simplisia. Cairan penyari sambil turun melarutkan zat aktif serbuk simplisia. Karena adanya sifon setelah pelarut mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan kembali ke labu. Cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping.

Keuntungan ekstraksi dengan sokletasi 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. Sedangkan kerugian dari metode Sokletasi adalah larutan dipanaskan terus menerus sehingga zat aktif yang tidak tahan pemanasan kurang cocok, hal ini dapat diperbaiki dengan menambahkan peralatan untuk mengurangi tekanan udara. Cairan penyari dididihkan terus menerus, sehingga cairan penyari yang baik harus murni atau campuran azeotrop (Anonim, 1986).

#### d. Infundasi

Infundasi adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90° selama 15 menit. Infundasi merupakan proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Anonim, 1986).

### 4. Spektrofotometri

#### a. Pengantar

Jika suatu sinar melewati suatu medium homogen, sebagian cahaya datang ( $P_o$ ) diabsorpsi sebanyak ( $P_a$ ), sebagian dapat diabaikan dipantulkan ( $P_r$ ) dan sisanya dapat ditransmisikan ( $P_t$ ) dengan efek intensitas murni sebesar

$$P_o = P_a + P_t + P_r$$

Pada prakteknya  $P_r$  adalah kecil sekali sehingga unyuk tujuan praktis dapat ditulis

$$P_o = P_a + P_t$$

Jika suatu berkas radiasi monokromatik yang sejajar jatuh pada medium pengabsorpsi pada sudut tegak lurus setiap lapisan yang sangat kecilnya akan menurunkan intensitas berkas. Jika suatu cahaya monokromatis mengenai suatu medium yang transparan, laju pengurangan intensitas dengan ketebalan medium sebanding dengan intensitas cahaya. Intensitas berkas sinar monokromatis berkurang secara eksponensial bila konsentrasi zat pengabsorpsi bertambah. Ketiga hal tersebut adalah persamaan mendasar untuk spektroskopi absorpsi, dikenal sebagai hukum Beer's Lambert atau hukum Beer Bougar.

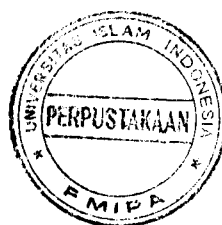
$$\text{Persamaan Beer-Lambert: } A = abc$$

Hukum ini secara matematika adalah sah. Bila  $c$  dinyatakan dalam mol/l dan  $b$  dinyatakan dalam cm,  $a$  adalah absorpsivitas molar, yaitu persamaan ini menyatakan absorbansi bila  $b = 1$  dan  $c = 1$  cm. Berarti absorpsivitas molar adalah absorbansi larutan yang diukur dengan ketebalan  $c = 1$  cm dan dengan konsentrasi 1 mol/l. Absorpsivitas molar juga dikenal sebagai koefisien ekstingsi molekular ( $\epsilon$ )

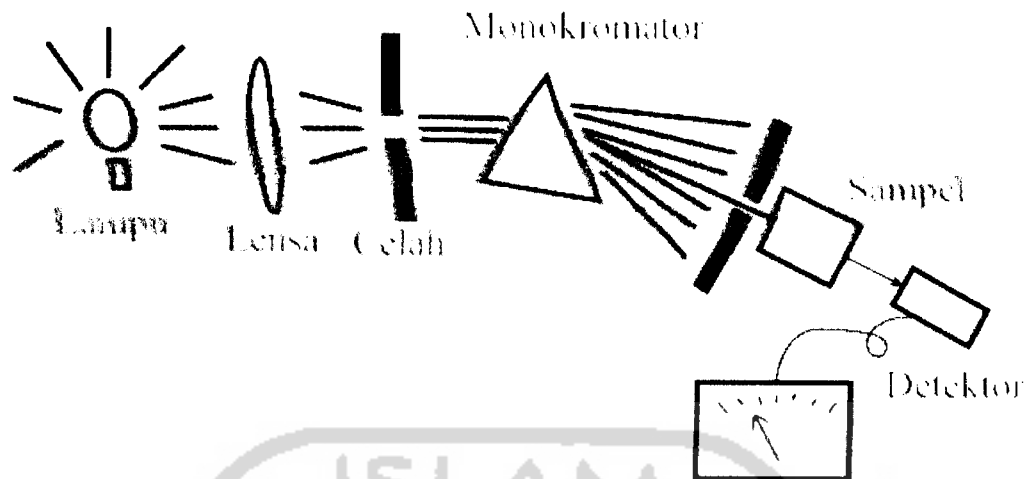
Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dibandingkan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terseleksi dan ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating ataupun celah optik. Pada fotometer filter, sinar dengan panjang gelombang yang diinginkan diperoleh dengan berbagai filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewati trayek panjang gelombang tertentu (Khopkar, 1990).

Dalam spektrofotometri UV atau sinar tampak interaksi yang terjadi adalah adanya eksitasi elektronik dalam molekul meliputi eksitasi dari orbital  $\pi$  ke  $\pi^*$  atau  $n$  ke  $\pi^*$  terjadi pada molekul organik dengan ikatan rangkap atau kromofor. Kromofor; Suatu gugus kovalen tidak jenuh yang bertanggung jawab untuk serapan elektronik ( $C=C$ ,  $C=O$ ,  $NO_2$ ). Ausokrom; Suatu gugus jenuh dengan elektron tidak terikat. Jika menempel pada suatu kromofor akan merubah panjang gelombang dan intensitas serapan ( $OH$ ,  $NH_2$ ,  $Cl$ ).

Energi yang diperlukan untuk proses  $\pi$  ke  $\pi^*$  atau  $n$  ke  $\pi^*$  cukup rendah, yaitu pada daerah spektrum yang baik sekali sekitar 200 sampai 700 nm. Jenis pelarut yang dipakai akan mempengaruhi panjang gelombang maksimum. Puncak-puncak (maksimum-maksimum) yang diasosiasikan dengan transisi  $n$  ke  $\pi^*$  umumnya digeser ke panjang gelombang yang lebih pendek (*hypsochromatic* atau *blue shift*) dengan bertambahnya kepolaran pelarut. Biasanya, tapi tak selalu, kebalikannya teramati untuk transisi  $\pi$  ke  $\pi^*$  (*bathochromic* atau *red shift*). Pengaruh *hypsochromatic* tampaknya berasal dari pelarutan yang bertambah dari pasangan elektron tak berikatan yang menurunkan energi orbital  $n$  (Hendayana, dkk., 1994).



## b. Instrumentasi



Gambar 6. rangkaian alat spektrofotometer (Anonim, 2004)

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

### (1) Sumber tenaga radiasi

Sumber tenaga radiasi terdiri dari benda yang tereksitasi hingga ke tingkat tenaga yang tinggi oleh sumber listrik bertegangan tinggi atau oleh pemanasan listrik. Benda/materi yang kembali ke tingkat tenaga yang lebih rendah atau ketingkat dasarnya, melepaskan foton dengan tenaga-tenaga yang karakteristik yang sesuai dengan  $\Delta E$ , yaitu perbedaan tenaga antara tingkat tereksitasi dan tingkat dasar rendah (Sastrohamidjojo, 2001). Sumber radiasi ultraviolet yang biasanya digunakan adalah lampu hidrogen dan lampu deuterium.

Hidrogen/deuterium : lampu ini akan menghasilkan spektrum yang bersifat kontinyu (elektron-elektron yang kembali ke tingkat dasar akan melepaskan radiasi yang kontinyu) dipakai untuk menghasilkan sinar ultraviolet

Tungsten-Filament Lamp : akan menghasilkan spektrum kontinyu apabila filament tersebut di hubungkan dengan arus listrik dan juga pada temperatur yang tinggi yaitu  $2900^{\circ}\text{K}$ . Panjang gelombang yang dihasilkan adalah antara 350 – 2500 nm (visible- IR), Mudah putus filamennya/tidak awet. (Sastrohamidjojo, 2001).

Untuk memperoleh tegangan yang stabil dapat digunakan transformator. Jika potensial tidak stabil, kita akan mendapatkan energi yang bervariasi. Untuk

mengkompensasi hal ini maka dilakukan pengukuran transmittansi larutan sampel selalu disertai larutan pembanding (Khopkar, 1990).

## (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/panjang gelombang-gelombang tunggalnya dan memisahkan panjang-panjang gelombang tersebut menjadi jalur-jalur yang sempit (Sastrohamidjojo, 2001).

Alatnya dapat berupa prisma atau grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian ini dapat digunakan celah. Jika celah posisinya tetap, maka prisma atau gratingnya yang dirotasikan untuk mendapatkan  $\lambda$  yang diinginkan (Khopkar, 1990).

## (3) Tempat cuplikan

Cuplikan yang akan dipelajari pada daerah ultraviolet. Atau terlihat yang biasanya berupa larutan ditempatkan dalam sel atau cuvet. 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, 2001).

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, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dioksan, diklorometan, 95% etanol, etil 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, 2001).



#### (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, 2001).

### **5. Kromatografi Lapis Tipis**

#### **a. Pengantar**

Pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan terutama dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi. Pemilihan teknik kromatografi sebagian besar bergantung pada sifat kelarutan dan keatsirian senyawa yang akan dipisah (Harborne, 1987).

Pada penelitian ini salah satu jenis kromatografi yang digunakan adalah kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan sistem kromatografi yang cocok digunakan untuk analisis obat di laboratorium farmasi. KLT adalah metode pemisahan fisikokimia. Prinsip dasar KLT adalah suatu cara pemisahan yang berdasarkan pada pembagian campuran dua senyawa dalam dua fase dimana fase gerak bergerak terhadap fase diam. Cara ini dapat dipakai pada pemeriksaan pendahuluan ekstrak kasar dari kebanyakan senyawa dan deteksi pendahuluan (Stahl, 1985).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu alat pemisah dan alat uji senyawa kimia secara kualitatif dan kuantitatif. Senyawa yang dapat diuji berupa senyawa tunggal maupun campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan, maupun dari tanaman dan mikroorganisme. Alat ini merupakan alat yang mudah penggunaannya, murah dan selektif, walaupun sekarang telah dikembangkan. Pengembangan KLT mengikuti perkembangan teknologi, karena alat pembuat lapisan tipis, jenis fase diam, alat penotol, dan alat pelacak bercak dapat dilakukan secara otomatis. Analisis kualitatif dapat dilakukan langsung tanpa harus diambil atau disari dari lapisan lempeng. Walaupun demikian cara analisis konvensional untuk melacak jenis gugus seperti senyawa reduktor, alkaloid, golongan karbohidrat maupun golongan sulfa dapat

dilakukan dengan pereaksi penampak bercak. Pelacak bercak dengan bantuan spektroskopis umumnya menggunakan sinar UV, sinar tampak, yang dinamakan alat densitometer. Bila dilengkapi dengan pelacak spektrofourometer dinamakan scanner.

### **b. Parameter**

Prinsip dasar dari KLT adalah cara pemisahan berdasarkan pada pembagian dua senyawa dalam dua fase, dimana fase gerak bergerak terhadap fase diam. Retensi waktu  $R_f$  merupakan perbandingan jarak tempuh linarut dibanding jarak tempuh fase gerak atau  $d_R/d_m$  dirumuskan

$$R_f = d_R/d_m$$

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh linarut (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Bilangan  $R_f$  umumnya lebih kecil dari 1, sedangkan bila dikalikan dengan 100 akan berharga antara 1-100, yang dinamakan  $hR_f$ .

### **c. Fase diam**

Fase diam KLT berupa fase yang polar (fase normal) maupun fase non polar (fase terbalik).

- (1) Silika gel : merupakan silika yang dibebaskan dari air, bersifat sedikit asam. Fase ini lebih banyak digunakan, bahan ini dapat digunakan untuk pemisahan senyawa yang bersifat asam atau basa.
- (2) Alumina : bersifat sedikit basa, lebih jarang digunakan, bila akan digunakan diaktifkan kembali dengan pemanasan.
- (3) Kiselgur : sebenarnya merupakan asam silica yang amorf berasal dari kerangka diatomeae, maka lebih dikenal dengan nama tanah diatomeae, kurang bersifat adsorptif dibanding silica.
- (4) Magnesim silikat : nama lain dalam perdagangan dikenal dengan floresil, hanya digunakan bila adsorben lain tidak dapat digunakan.
- (5) Selulosa : karena polaritasnya yang tinggi dapat digunakan sebagai pemisah secara partisi, baik dalam bentuk kertas maupun bentuk lempeng.

Fase diam yang merupakan fase terbalik adalah :

- (1) fase diam silika yang dilapisi dengan senyawa non polar misalnya lemak, parafina, minyak silikon *ruber* gom, atau lilin.
- (2) Resin sebagai fase diam penukar ion.

### c. Fase gerak

Pemilihan fase gerak baik tunggal maupun campuran tergantung pada linarut 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 linarut untuk pemurnian. Bila fase gerak sulit dipisahkan dari linarut akan mengganggu dalam analisis selanjutnya seperti analisis spektroskopi. Dalam analisis kualitatif untuk elusidasi atau penyanderaan struktur kimia diperlukan kemurnian yang tinggi.

Untuk pemisahan flavonoid dengan kromatografi, bercak yang dihasilkan dapat dilihat dengan sinar tampak, tetapi kebanyakan hanya terlihat bila diperiksa dengan sinar UV dan kromatogram diuapi ammonia akan terlihat perubahan warna yang bolak balik, banyaknya warna merupakan ciri khas flavonoid tertentu. Banyak fase gerak yang bisa digunakan untuk pemisahan flavonoid, misalnya pengembang BAW untuk fase gerak biasanya dibuat untuk pengembangan selama semalam dan diusahakan mengendalikan suhu bejana kromatografi atau suhu kamar tempat kromatografi dilakukan (Harborne,1987).

### d. 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 fasa bergerak), sedangkan pemisahan yang sama dengan kertas yang mempunyai jenis cepat memerlukan waktu 2 jam. Hasil pemisahan yang baik ternyata dari kenyataan bahwa penjerap dalam kromatografi lapis tipis mempunyai kapasitas yang lebih besar bila dibandingkan dengan kromatografi

kertas (Sastrohamidjojo, 2001). Salah satu kekurangan dari kromatografi lapis tipis ini adalah kerja penyalutan pelat kaca dengan penjerap (Harborne, 1987).

## 6. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom-atom molekul yang pada kulit terluarnya mengandung satu atau lebih elektron tak berpasangan (Lautan,1997; Suyatna, 1989).

Radikal bebas dapat diibaratkan memiliki dua mata pisau, karena di satu pihak ia bermanfaat bagi tubuh kita yaitu untuk pertahanan tubuh terhadap penyakit, dengan bereaksi dan beradu dengan pendatang asing, seperti bakteri dan jamur, juga sebagai pembunuh mikroba yang masuk dalam tubuh, tapi disisi lain jika berlebihan justru dapat merusak sel-sel tubuh sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan dalam tubuh (Hertiani, 2000; Pramono,1999).

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. Didalam 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).

Radikal bebas dan oksigen aktif sangat berperan dalam patogenesis pada penyakit manusia tertentu termasuk kanker, proses penuaan dan aterosklerosis. Lipid peroksidasi yang meliputi rangkaian radikal bebas jika dihubungkan dengan beberapa tipe kerusakan biologis. Lipid peroksidasi diketahui sebagai radikal bebas yang kemungkinan dapat menyebabkan penurunan stabilitas dan disintegrasi membran sel (Oshawa dan Namiki, 1994)

Senyawa-senyawa maupun reaksi kimia yang cenderung menghasilkan spesies oksigen reaktif (spesies oksidan yang potensial toksik) disebut prooksidan (Lautan, 1997)

Keberadaan antioksidan tubuh tersebut menyebabkan oksigen radikal di dalam tubuh hewan dan manusia tidak memberikan pengaruh buruk asalkan jumlahnya seimbang (Pramono, 1999). Pada keadaan normal terdapat kesetimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Bila keseimbangan ini beralih kearah kelebihan prooksidan maka keadaan ini disebut oksidatif stress (Lautan, 1997). Jika oksidatif stress berlangsung berat dan lama, akan menimbulkan kerusakan DNA dan makromolekul lain sehingga terjadi penyakit-penyakit degeneratif, keganasan, kematian sel-sel vital tertentu, yang pada akhirnya akan menyebabkan penuaan dan kematian pada individu tersebut (Gitawati, 1995).

Antioksidan merupakan agen antiinflamasi yang bekerja melalui penangkapan radikal oksigen dan dapat menghambat segala tipe oksigenasi. Respon inflamasi pada binatang percobaan berhubungan dengan gangguan proses oksidasi seluler oleh aksi antiinflamasi senyawa antioksidan. Ada hubungan perarel antara pembentukan udem pada tikus yang diinduksi karagen dengan produksi lipid peroksidasi oleh secara invitro.

Sampai saat ini telah dikenal dua jenis oksidan yaitu oksigen hayati ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ , OH) dan asam hipoklorit (HOCl). Oksidan tersebut merupakan sel-sel

fagosit yang dilepaskan manakala sel fagosit teraktifkan selama berlangsung peradangan.

Proses metabolisme tubuh cenderung menghasilkan berbagai oksidan kuat; dari oksidan ini, radikal hidroksil merupakan oksidan yang paling toksik karena dapat bereaksi dengan bermacam-macam senyawa elementer seperti protein, asam nukleat, lipid dan lain-lain sehingga dapat dengan mudah merusak struktur sel atau jaringan (Gitawati,1995).

Tidak semua spesies oksigen reaktif adalah radikal bebas, umpamanya  $H_2O_2$  dan oksigen singlet tapi termasuk spesies oksigen reaktif (Lautan,1997).

Beberapa spesies oksigen reaktif yang dijumpai dalam tubuh :

- (1) Radikal bebas superoksida ( $O^{\cdot}$ )
- (2) Radikal bebas hidroksi ( $OH^{\cdot}$ )
- (3) Radikal bebas alkoksi ( $RO^{\cdot}$ )
- (4) Radikal bebas peroksi ( $ROO^{\cdot}$ )
- (5) Peroksida lipid (LOOH)
- (6) Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ )
- (7) Singlet oksigen( $O_2$ )
- (8) Ion hipoklorit ( $^{\cdot}OCl$ )

Adanya kecenderungan mengambil sebuah elektron dari senyawa-senyawa lain, menyebabkan spesies oksigen ini sangat reaktif (Lautan,1997). Sifat yang sangat reaktif menyebabkan molekul ini dapat menimbulkan perubahan kimiawai dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, lipid karbohidrat dan nukleotida; terhadap protein, radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi dan *cross linking*, sehingga dapat mempercepat terjadinya proteolisis (Suyatna, 1989); terhadap lipid mengakibatkan peroksidasi yang dapat mencetuskan proses autokatalitik dan menjalar sampai jauh dari tempat reaksi semula. Lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh lebih rentan terhadap oksidasi. Radikal bebas dapat mengikat komponen karbohidrat dari membran plasma secara kovalen, sehingga struktur dan fungsi reseptor berubah. Jika radikal bebas terbentuk dekat DNA, perubahan struktur karena molekul ini dapat menyebabkan mutasi atau sitotoksitas. Efek perusakan sel oleh antibiotik,

fagositosis, radiasi dan xenobiotik mempunyai kesamaan umum dalam mekanisme kerjanya melalui pembentukan radikal bebas (Suyatna, 1989).

Sel dalam sel mamalia, pertahanan tubuh terhadap radikal bebas dan metabolitnya diselenggarakan oleh sistem enzim tertentu dan substansi tertentu (Suyatna, 1989). Sistem antioksidan tubuh melindungi jaringan dari efek negatif oksigen radikal atau radikal bebas. Sistem pertahanan tersebut dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu:

- a. Antioksidan primer, yaitu antioksidan yang dapat menghalangi pembentukan senyawa radikal bebas baru, contoh superoksida dismutase (SOD) merubah  $O_2$  menjadi hidrogen peroksida. Glutation peroksidase (GPx) merubah hidrogen peroksida dan lipid peroksida menjadi molekul yang tidak berbahaya sebelum mereka menjadi radikal bebas.
- b. Antioksidan sekunder atau penangkap radikal (*radical scavenger*), yaitu antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai, contoh: vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, kurkuminoid, bilirubin dan albumin.
- c. Antioksidan tersier, yaitu antioksidan yang memperbaiki kerusakan biomolekuler yang telah terjadi yang disebabkan oleh radikal bebas, contohnya adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfoksida reduktase (Hertiani, 2000; Pramono, 1999).

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. Sedangkan 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).

Oleh karena itu, tindakan pencegahan untuk melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas merupakan hal yang penting. Lembaga penelitian

radikal bebas di Paris tahun 1988 mengadakan konggres mengenai penggunaan antioksidan dalam usaha pencegahan dan pengobatan penyakit akibat radikal bebas, baik antioksidan sintetik maupun alami dengan potensi aplikasi klinik, seperti untuk terapi berbagai penyakit iskemia, rematik, jantung, penyakit neuromuskular dan *ocular, cystic fibrosis* dan diabetes. Antioksidan sebagai inhibitor peroksidase lemak selain untuk melindungi makanan dari ketengikan juga penting untuk melindungi sel dari kerusakan oksidatif.

### 7. DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

DPPH adalah suatu radikal organik nitrogen stabil yang 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* (EPR) atau adanya penurunan absorbansinya, reaksinya diamati pada spektrofotometer (Prior *et al*, 2005). Pengujian DPPH terutama berdasarkan reaksi ET (*electron transission*) dan hidrogen atom abstraction adalah salah satu jalur lainnya (Huang *et al*, 2005).

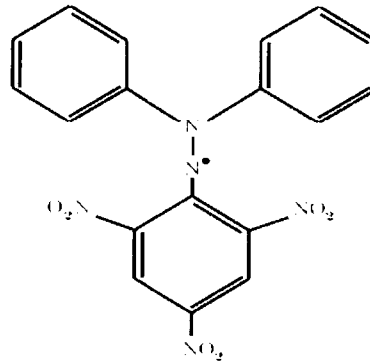
Keuntungan ataupun kerugian pengujian DPPH diantaranya; tes yang akan dikerjakan cepat dan sederhana dibanding metode lainnya, untuk pembacaan hasilnya hanya menggunakan UV-vis spektrofotometer. Tetapi interpretasinya agak susah apabila pada pengujian ada komponen yang mempunyai spektrum yang tumpang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

Caretenoid termasuk golongan senyawa tetraterpenoid, sebagian senyawa terpenoid termasuk senyawa nonpolar dan karena itu dapat dipisahkan dari senyawa polar dengan mengekstraksi menggunakan pelarut seperti benzena atau eter (Robinson, 1995).

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)  $C_{18}H_{12}N_5O_6$  BM : 394,3

Kristal violet larut dalam benzil, agak larut dalam petroleum eter dan alkohol (Jonas *et al*, 1974).





Gambar 7. Struktur DPPH (Jonas *et al*, 1974)

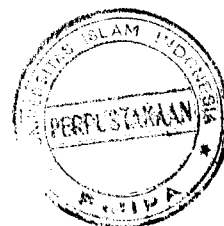
#### a. Radikal bebas dan perubahan reduksinya

Molekul dari *1,1 diphenyl-2 picrylhidrazyl* dicirikan sebagai radikal bebas stabil yang menyesuaikan diri dengan keadaan delokalisasi oleh *spare electron* pada molekul. Jadi molekulnya tidak mengalami dimerisasi seperti pada radikal bebas lainnya. Adanya delokalisasi memberikan warna ungu tua, karakteristiknya dengan pelarut etanol akan menimbulkan absorbansi sekitar 520 nm (Molyneux, P., 2004).

Ketika larutan DPPH dicampurkan dengan substansi yang dapat mendonasi atom hidrogen, maka akan terjadi pengurangan intensitas warna ungunya (meskipun akan diharapkan untuk menjadi residu yang berwarna kuning pucat dari adanya gugus pikril). Apabila DPPH disebut  $Z^{\bullet}$  dan donor molekul disebut AH, maka reaksinya

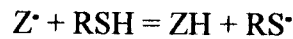


dimana ZH tereduksi bentuknya dan  $A^{\bullet}$  adalah radikal bebas yang terproduksi pada langkah pertama. Pada akhirnya radikal akan mengalami reaksi stoikiometri, jumlah dari molekul DPPH tereduksi oleh satu molekul reduktan. Reaksi diatas akan membuktikan bahwa reaksinya terjadi pada sistem oksidasi seperti pada autooksidasi dari lipid atau substansi tidak tersaturasi. Molekul DPPH menggambarkan radikal bebas yang terbentuk pada suatu sistem yang aktivitasnya dihambat oleh substansi AH (Molyneux, P., 2004).



### b. Metode asal (Blois)

Metode DPPH diperkenalkan 50 tahun yang lalu oleh Marsden Blois yang bekerja pada *Stanford University* (Blois, 1958). Dia menggunakan tiol yang mengandung asam amino sistein sebagai model antioksidan. Jika radikal DPPH adalah  $Z^{\cdot}$  dan molekul sistein adalah RSH, reaksinya adalah sebagai berikut



Radikal bebas  $RS^{\cdot}$  akan bereaksi dengan molekul lain yang sama dengan jenis yang akan diproduksi oleh reaksi paralel:  $RS^{\cdot} + RS^{\cdot} = RS-SR$

Hal ini memicu teramatinya reduksi dua molekul DPPH oleh dua molekul sistein, yaitu stoikiometri 1:1. Molekul-molekulnya mempunyai dua sisi yang berdekatan untuk abstraksi hidrogen yang akan tersambung secara internal, seperti pada kasus vitamin C atau asam askorbat.

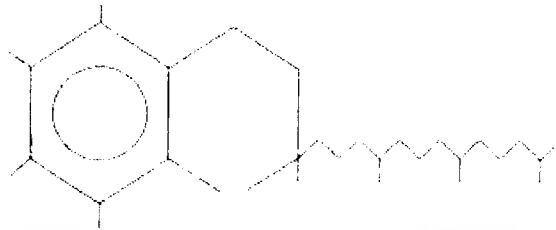
Hal ini akan memicu stoikiometri 2:1, 2 molekul DPPH tereduksi oleh satu molekul asam askorbat. Hal yang sama terjadi pada reaksi dengan *hidroquinon* (1,4-dihidroksi benzen) yang akan memicu produksi quinon (1,4-benzoquinon) oleh 2 langkah mekanisme. Juga pada *alfa tokoferol* (vitamin E) mengalami reaksi stoikiometri 2:1. Menurut Blois (1958) data eksperimental akan dibuat kurva kalibrasi dari nilai absorbansinya (disebut dengan *optical density* yang nilainya sekitar 0.6-0.2) (Molyneux, P., 2004).

Satu parameter yang diperkenalkan saat ini untuk menginterpretasikan metode DPPH adalah "*Effective Concentration*" atau disebut  $EC_{50}/IC_{50}$ . Definisi dari  $EC_{50}$  adalah konsentrasi dari substrat yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (warnanya) (Molyneux, P., 2004).

## 7. Vitamin E ( $\alpha$ tokoferol)

Merupakan vitamin yang larut lemak, termasuk turunan kroman yang pada posisi 2 mengandung rantai samping dengan 16 atom C. Antara vitamin E yang satu dengan yang lain hanya berbeda jumlah dan letak gugus metil pada cincin benzen. Vitamin E dapat dianggap produk kondensasi hidroquinon termetilasi dengan fitol yang mempunyai kerja paling kuat yaitu  $\alpha$  tokoferol. 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 tinggi tak jenuh pada lipid membran serta menghambat oksidasi zat tubuh lainnya (Mutschler, 1991).



Gambar 8. Struktur Vitamin E (Mutschler, 1991)

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

### B. Keterangan Empiris

Salah satu buah yang mudah dijumpai dan digunakan untuk pengobatan adalah rambutan. Dipercaya biji rambutan berkhasiat menurunkan kadar gula darah, kulit buah untuk penurun panas. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek antioksidan beberapa tumbuhan yang di dalamnya mengandung flavonoid. Berdasarkan kandungan senyawa kimia yang ada di dalam kulit buah rambutan, maka layak dilakukan penelitian mengenai efek antioksidan ekstrak kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*).



## BAB III METODE PENELITIAN

### A. Bahan dan Alat

#### 1. Bahan Penelitian

##### a. Tanaman

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kering buah rambutan (*Nephelium lappaceum L*) di ambil kulitnya yang diperoleh dari daerah Wedomartani Sleman.

##### b. Bahan Kimia

DPPH-2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl-(Sigma-aldrich), vitamin E ( $\alpha$  tokoferol-E-Merck), etanol pa (E-Merck), petroleum eter, aquadestilata, plat silika gel GF<sub>254</sub>, rutin, pereaksi Mayer, serbuk Mg, HCl 2 N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, bensen, NaOH 2 N, fase gerak (etil asetat-asam formiat-asam asetat-air), pereaksi semprot AlCl<sub>3</sub>.

#### 2. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah sebagai berikut: mesin penyerbuk (Honda); alat-alat gelas; corong pisah; sokhlet; timbangan analitik (Dragon 205); rotary evaporator; eksikator; gunting; bejana kromatografi; pipa kapiler; lampu UV 254 nm, UV 365 nm, visibel; spektrofotometer U-2810 Hitachi.

### B. Alur Penelitian

#### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII dengan berdasarkan buku Flora of Java.

#### 2. Pengeringan dan Penyerbukan simplisia kering kulit buah rambutan

Kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) hasil sortasi dikeringkan di lemari pengering pada suhu sekitar 40-50° C selama 4 hari dan diserbuk menggunakan mesin penyerbuk, kemudian ditempatkan dalam plastik bersih.

### 3. Pembuatan ekstrak etanol kulit buah rambutan

Sebanyak 30 g serbuk diekstraksi menggunakan petroleum eter 180 ml kemudian setelah itu dengan etanol menggunakan alat Sokhlet. Untuk setiap 30 g serbuk digunakan 150 ml etanol. Setelah cairan penyari jernih, proses ekstraksi dihentikan dan selanjutnya ekstrak etanol diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* selama 10 menit hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dikeringkan di eksikator.

### 4. Identifikasi flavonoid dengan pereaksi kimia dan menggunakan KLT

#### a. Pemeriksaan pendahuluan dengan pereaksi kimia

##### 1. alkaloid

larutan ekstrak sebanyak 3 ml ditambah dengan 1 ml HCl 2 N dan 6 ml aquades, kemudian panaskan selama 2 menit, dinginkan kemudian disaring. Filtrat diperiksa adanya alkaloid dengan pereaksi Mayer akan membentuk endapan.

##### 2. flavonoid

larutan ekstrak sebanyak 2 ml ditambah dengan sedikit serbuk seng dan 2 ml HCl 2 N akan menimbulkan warna jingga sampai merah.

##### 3. antrakuinon

larutan ekstrak 2 ml dipanaskan dengan 5 ml  $H_2SO_4$  selama 1 menit. Setelah dingin dikocok dengan 10 ml benzen. Warna kuning pada lapisan benzen menunjukkan adanya antrakuinon. Dapat diperjelas jika ditambah NaOH 2 N akan menimbulkan warna merah pada lapisan air (Anonim, 1989).

#### b. Pemeriksaan dengan KLT

Ekstrak dilarutkan dalam metanol ditotolkan sekitar 5 totalan 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 semprot dengan  $AlCl_3$ , amati dibawah lampu UV 254 nm, UV 365 nm dan visibel, hitung nilai Rf, kemudian bandingkan dengan kromatogram zat pembanding.

### 5. Pembuatan larutan ekstrak dan vitamin E

Larutan dibuat dengan pengenceran ekstrak dan vitamin E dengan seri konsentrasi 2 µg/ml, 3 µg/ml, 4 µg/ml, 5 µg/ml, 6 µg/ml dengan menggunakan pelarut etanol.

### 6. Pembuatan larutan standar DPPH

Sebanyak 7.8 mg DPPH ditimbang larutkan sampai 100 ml dengan etanol (0.2 mM). Ambil 20 ml dari larutan di atas encerkan pada labu takar 50 ml, diamkan 30 menit ditempat gelap

### 7. Penetapan $\lambda$ maks DPPH

Dilakukan sesuai dengan prosedur penetapan spektrofotometer dalam menentukan  $\lambda$  maksimum suatu cuplikan. Larutan DPPH di homogenkan dan kemudian diamati pada  $\lambda$  400-600 nm.

### 8. Penentuan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dari ekstrak kulit buah rambutan dengan pembandingan vitamin E

Larutan uji (1,5 ml) dalam berbagai konsentrasi, ditambahkan DPPH (3,0 ml), dihomogenkan, didiamkan 20 menit dan dibaca absorbansinya pada  $\lambda$  maksimum dengan blanko etanol. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap vitamin E.

## C. Analisis Penelitian

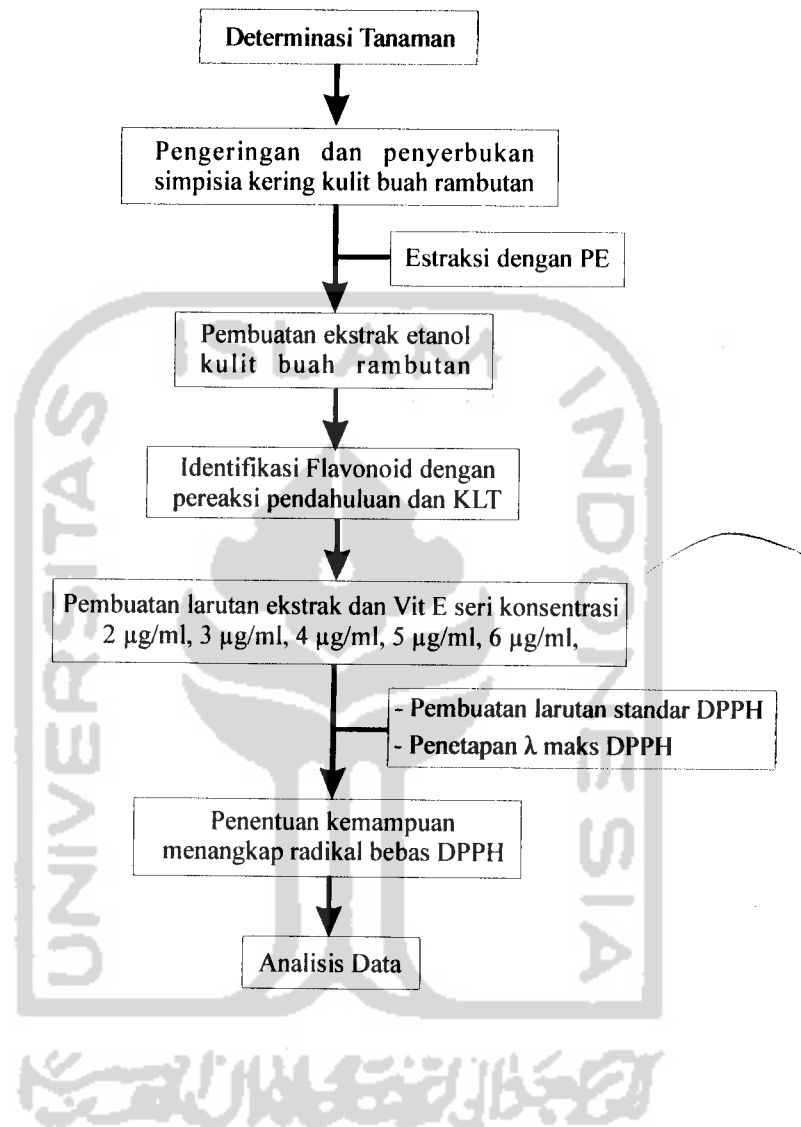
Aktivitas anti radikal ditentukan dengan metode DPPH. Besarnya aktivitas anti radikal atau penangkapan radikal (*radical scavenging*) dihitung dengan rumus

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

Dari data % peredaman dihitung koefisien korelasi r dan persamaan regresi, dari persamaan tersebut dihitung kapasitas peredamannya berdasarkan harga *effective concentration 50* (EC 50) yaitu konsentrasi ekstrak yang memberikan persen penangkapan radikal sebanyak 50%. Masing-masing nilai peredaman dari berbagai konsentrasi yang digunakan dianalisis dengan bantuan

SPSS analisis Oneway Anova, kemudian hasil peredaman dibandingkan dengan vitamin E (*α tokoferol*) secara statistik menggunakan *paired sample T-Test*

### Skema penelitian





## BAB IV PEMBAHASAN

### a. Determinasi dan ekstraksi 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.

Kulit buah rambutan dikumpulkan dari daerah yang sama yaitu daerah Wedomartani dengan maksud untuk menghindari variabel kandungan kimia yang terlalu besar (Lampiran 1). 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, diperlukannya 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-197b-208b-219b-220a-221b-

222a 69 famili *Sapindaceae*

1b-5a *nephelium* (Backer & Bringk, 1965)

Ekstrak didapatkan dengan menggunakan metode sokletasi yaitu penyarian berkesinambungan dengan pelarut etanol, pelarut tidak hilang karena adanya pendingin balik yang akan mengembunkan pelarut. Bobot awal serbuk yang di ekstraksi adalah 30 g, kemudian setelah dilakukan ekstraksi dan diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* dihasilkan 8.65 g ekstrak kental. Ekstraksi metode soklet digunakan etanol karena senyawa yang diduga bersifat antioksidan adalah polar. Senyawa yang polar akan terlarut kepada pelarut yang polar juga. Sebelumnya dilakukan penghilangan lemak menggunakan petroleum eter untuk menghilangkan senyawa nonpolar seperti lipid. Dengan adanya penghilangan lemak maka diharapkan dapat mengaktifkan gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa fenolik.

### b. Identifikasi kimia dan KLT

Hasil identifikasi kimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L*) dengan pereaksi Mayer tidak membentuk endapan berarti tidak terkandung alkaloid, dengan Benzen-NaOH tidak menimbulkan warna merah berarti tidak mengandung antrakuinon, warna yang muncul dengan pereaksi Mg/HCl interpretasinya agak susah tetapi intensitas warna kuningnya semakin menguat sehingga masih perlu dibuktikan dengan KLT.

**Tabel II. Hasil identifikasi kimia ekstrak etanol kulit buah rambutan**

Pereaksi	Golongan	Hasil
Mayer	Alkaloid	-
Mg/HCl	Flavonoid	+
Benzen-NaOH	Antrakuinon	-

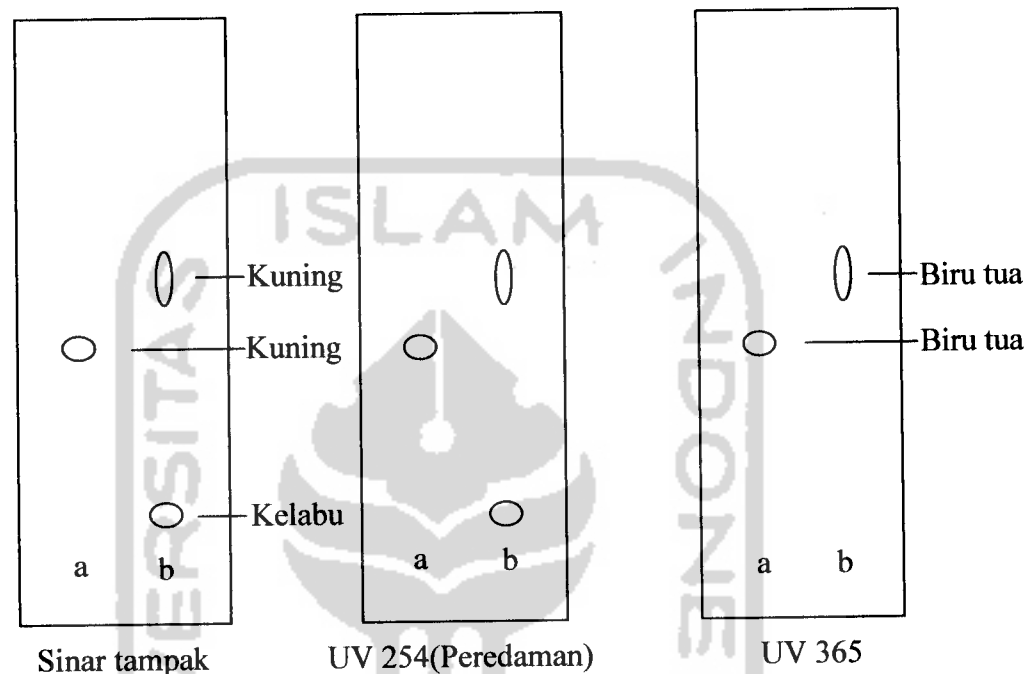
Hasil identifikasi lanjutan dengan KLT (Lampiran 3), menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak etil asetat:asam formiat:asam asetat:air dengan perbandingan 100:11:11:27 didapat profil kromatogram ekstrak yaitu mempunyai 2 bercak dengan warna bercak kelabu dan kuning pada lampu visibel, pada pembanding rutin berwarna kuning. Warna kuning pada lampu visibel menunjukkan adanya flavonoid. Di bawah sinar UV 254 terjadi peredaman. Kemudian setelah disemprot dengan AlCl<sub>3</sub> nampak bercak warna kuning menunjukkan flavonoid. Harga R<sub>f</sub> ekstrak 0.525 dan R<sub>f</sub> pembanding rutin adalah 0.4, menunjukkan bahwa bercak tersebut adalah flavonoid, warna biru tua di UV 365 pada ekstrak dan pembanding rutin juga menunjukkan bahwa didalam keduanya terkandung flavonoid.

**Tabel III. Hasil pembacaan warna bercak KLT ekstrak**

Visibel		UV 254		UV 365	
hR <sub>f</sub>	Warna	hR <sub>f</sub>	Warna	hR <sub>f</sub>	Warna
6.2	Kelabu	6.2	Redam	52	Biru tua
52	Kuning	52	Redam		

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

Visibel		UV 254		UV 365	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
40	Kuning	40	Redam	40	Biru tua



Keterangan :  
a : Pembanding (rutin)  
b : Ekstrak

Gambar 9. Hasil kromatogram ekstrak dan pembanding flavonoid

### c. Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah 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 DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan peluruhan warna DPPH (Blois, 1958). Warna yang muncul pada DPPH karena 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 521 nm (Lampiran 8). DPPH

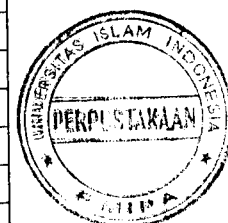
disimpan pada tempat gelap terlindung dari cahaya agar tidak terjadi peristiwa oksidasi molekul karena adanya cahaya. Sebelum radikal bebas dan senyawa peredam radikal bebas dicampurkan, larutan DPPH dibuat pada konsentrasi yang sama untuk kedua sampel uji. Demikian juga dengan konsentrasi ekstrak etanol kulit buah 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).

**Tabel V. Peredaman ekstrak kulit buah rambutan terhadap radikal bebas DPPH**

No	Kadar ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi	Peredaman	% peredaman
1	0.66	0.468	0.4251	42.51
		0.465	0.4287	42.87
		0.477	0.4140	41.40
2	1	0.454	0.4423	44.23
		0.449	0.4484	44.84
		0.452	0.4447	44.47
3	1.33	0.430	0.4717	47.17
		0.427	0.4754	47.54
		0.425	0.4779	47.79
4	1.66	0.404	0.5037	50.37
		0.402	0.5061	50.61
		0.401	0.5074	50.74
5	2	0.384	0.5283	52.83
		0.387	0.5246	52.46
		0.376	0.5381	53.81

Kontrol : 0.814

Peredaman ekstrak etanol kulit buah rambutan terhadap DPPH (Tabel III) dianalisa dengan metode parametrik Oneway Anova (Hanani, 2005), diperoleh nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti peredaman ekstrak berbeda bermakna terhadap peringkat dosis yang lain (Lampiran 5). Kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat perbedaan tiap peringkat dosis secara lebih terperinci. Dari hasil uji Tukey diperoleh hasil perbedaan yang bermakna untuk tiap peringkat dosis. Pada Post Hoc Test Homogeneous Subset untuk peredaman diatas terdapat lima subset artinya peringkat dosis mempunyai perbedaan yang signifikan satu dengan yang lainnya.



Penentuan aktifitas anti radikal dari ekstrak etanol kulit buah rambutan dihitung hasilnya terlihat dalam Tabel IV. Nilai intersep yang didapatkan adalah sebesar 36.58, kemudian nilai slopenya adalah 8.26.

**Tabel VI. Aktifitas antiradikal ekstrak kulit buah rambutan terhadap radikal bebas DPPH**

Kadar ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi (n=3)	% Peredaman $\pm$ SD
0.66	0.470	42.26 $\pm$ 0.767
1	0.452	44.51 $\pm$ 0.309
1.33	0.427	47.50 $\pm$ 0.309
1.66	0.402	50.57 $\pm$ 0.188
2	0.382	53.03 $\pm$ 0.699

$$y = bx + a$$

$$r = 0.9984$$

$$y = 8.26x + 36.58$$

$$EC_{50} = 1.623462 \mu\text{g/ml}$$

**Tabel VII. Peredaman vitamin E terhadap radikal bebas DPPH**

No	Kadar( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi	Peredaman	% peredaman
1	0.66	0.541	0.3831	38.31
		0.540	0.3843	38.43
		0.538	0.3865	38.65
2	1	0.516	0.4116	41.16
		0.515	0.4128	41.28
		0.517	0.4105	41.05
3	1.33	0.502	0.4276	42.76
		0.505	0.4242	42.42
		0.505	0.4242	42.42
4	1.66	0.494	0.4367	43.67
		0.498	0.4322	43.22
		0.491	0.4401	44.01
5	2	0.479	0.4538	45.38
		0.480	0.4527	45.27
		0.477	0.4561	45.61

Kontrol : 0.877

Peredaman vitamin E terhadap DPPH (Tabel V) dianalisa dengan metode parametrik Oneway Anova, diperoleh nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti peredaman ekstrak berbeda bermakna terhadap peringkat dosis yang lain (Lampiran 6). Kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat perbedaan tiap peringkat dosis secara lebih terperinci. Dari hasil uji Tukey diperoleh hasil perbedaan yang bermakna untuk tiap peringkat dosis.

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

Penentuan aktifitas anti radikal dari vitamin E dihitung dan diperoleh hasil seperti dalam Tabel VI. Nilai intersep yang didapatkan adalah sebesar 35.71, kemudian nilai slopenya adalah 4.90.

**Tabel VIII. Aktifitas antiradikal vitamin E terhadap radikal bebas DPPH**

Kadar ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi (n=3)	% Peredaman $\pm$ SD
0.66	0.540	38.46 $\pm$ 0.174
1	0.516	41.16 $\pm$ 0.114
1.33	0.504	42.53 $\pm$ 0.197
1.66	0.494	43.63 $\pm$ 0.400
2	0.479	45.42 $\pm$ 0.174

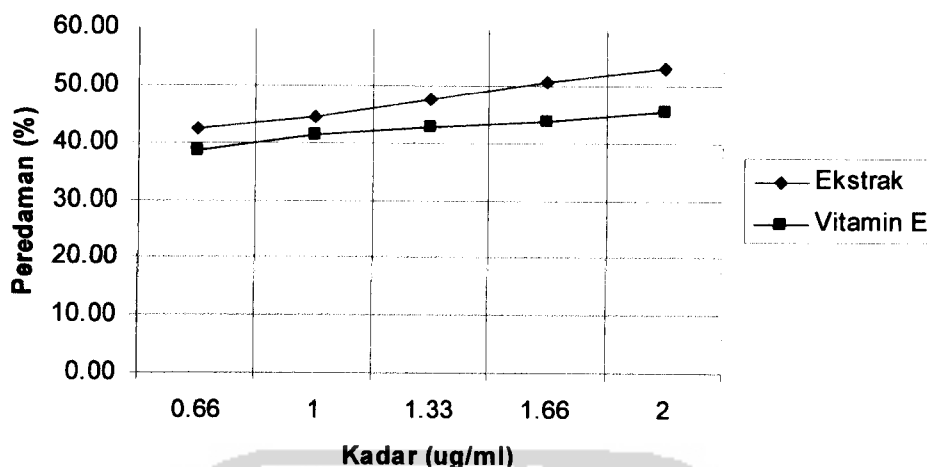
$$y = bx + a$$

$$y = 4.90x + 35.71$$

$$r = 0.9876$$

$$EC_{50} = 2.910549 \mu\text{g/ml}$$

Semakin besar kadar dari ekstrak etanol kulit buah rambutan dan vitamin E yang digunakan maka nilai peredaman terhadap DPPH juga semakin besar. Gambar 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 garisnya yang diatas lebih tinggi.



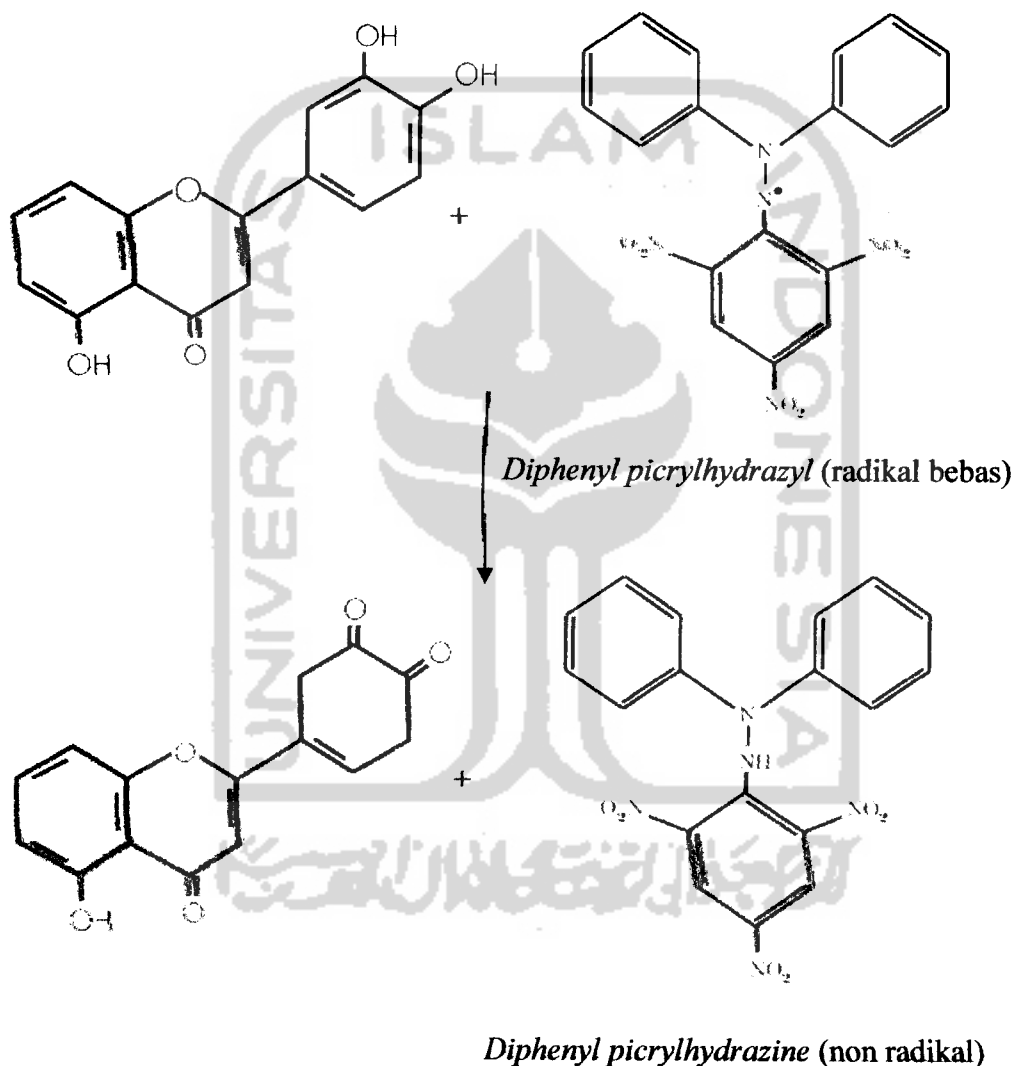
Gambar 10. Kurva perbandingan persen peredaman antara ekstrak etanol kulit buah rambutan dan vitamin E terhadap DPPH

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah rambutan mempunyai  $EC_{50}$  sebesar  $1.62 \mu\text{g/ml}$ . Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai aktifitas antioksidan yang kuat, karena mempunyai  $EC_{50}$  kurang dari  $200 \mu\text{g/ml}$  (Blois, 1958). Semakin kecil nilai  $EC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai antiradikal. Jika dibandingkan dengan vitamin E yang mempunyai  $EC_{50}$  sebesar  $2.91 \mu\text{g/ml}$  maka ekstrak etanol kulit buah rambutan mempunyai aktifitas yang lebih baik. Ekstrak mempunyai aktifitas antiradikal karena adanya flavonoid didalamnya, aktifitas semakin kuat karena kemungkinan adanya senyawa lain turunan polifenol yang terkandung didalam ekstrak.

Untuk melihat perbedaan antara kedua sampel maka dilakukan analisis statistik dengan menggunakan Paired Sampel T-Test didapatkan nilai signifikansi  $0.003 (< 0.05)$  maka berarti antara ekstrak uji dan vitamin E berbeda signifikan (Lampiran 7).

Ekstrak etanol kulit buah rambutan berkemampuan sebagai donor hidrogen yang akan mendonorkan  $H^\bullet$  dan meninggalkan  $O^\bullet$ .  $H^\bullet$  dan  $O^\bullet$  dapat bertindak sebagai antioksidan primer yang bereaksi dengan radikal bebas DPPH. Mekanisme reaksi senyawa-senyawa dalam ekstrak etanol kulit buah rambutan terhadap reaksi dengan DPPH merupakan reaksi reduksi (pengurangan jumlah DPPH) yang menunjukkan berkurangnya aktivitas antiradikal. Apabila DPPH

direduksi ditunjukkan dengan penurunan warna keunguan atau ketidaktampakan karena adanya aktifitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah rambutan. Hubungan flavonoid dan aktifitas anti radikal tergantung dari struktur molekul dan substitusi gugus hidroksil pada ketersediaan OH dan kemungkinan hasil dari stabilisasi radikal fenoksil melalui ikatan hidrogen atau melalui perluasan delokalisasi elektron. Reaksi suatu flavonoid dengan DPPH dapat digambarkan sebagai berikut :



**Gambar 11. Reaksi peredaman suatu flavonoid dengan radikal bebas DPPH (Windono, 2004)**



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) mempunyai kemampuan meredam radikal bebas DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*).
2. Kemampuan meredam radikal bebas DPPH dari ekstrak etanol kulit buah rambutan lebih besar daripada vitamin E.
3. Nilai EC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) adalah sebesar 1.62 µg/ml, lebih rendah dari vitamin E yakni 2.91 µg/ml.

#### B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktifitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah 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

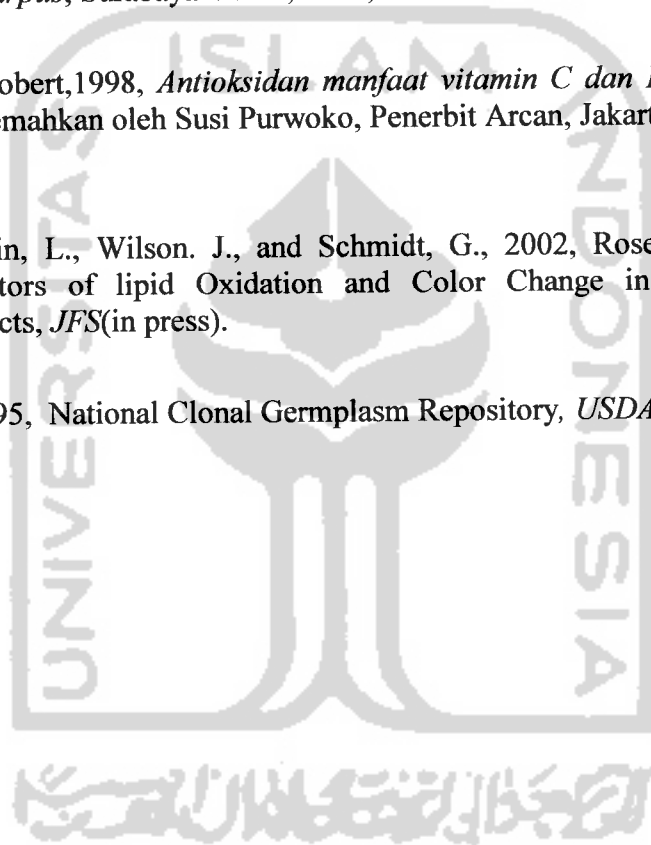
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Anonim, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 549-553.
- Anonim, 2003, *Rambutan*, available at <http://www.montosogardens.com> (diakses 25 juli 2006)
- Anonim, 2004, Basic UV-Vis Theory, Concepts and Applications, *Thermo spectronic*
- Anonim, 2005, *Antioksidan Memperpanjang Umur Tikus*, Kompas, 09 Mei 2005.
- Ansel, H. C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi IV, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., Universitas Indonesia Press, Jakarta, 615-619..
- Backer, C.A., & Bachuizer van den Brink, R.C., 1965, *Flora of Java* : book II, N.V.P. Noor Dhoff-Groningen The Netherland, 138
- Badami S, Prakash O, Dongre SH, Suresh B., 2005, In vitro antioxidant properties of *Solanum pseudocapsicum* leaf extracts, *Indian J Pharmacol*, 37:251-252.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant Determinations By The Use of a Stable Free Radical, *Nature*, 1199-1200.
- Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 3, Puspa Swara, Jakarta, 114-118.
- Dejan, Godjevac, V. Vajs, N. Menkov, V. Telev, P. Kov, S. Milosavljev, 2004, Flavonoids from flowers of *Cephalaria pastricenis* and their antiradical activity, *J. Serb. Chem. Soc.* 69 (11) 883–886 (2004) UDC 582.977:547.972:615.272.
- Endang Hanani, Abdul Mu'nim, Ryany Sekarini, 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* SP dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No. 3, Desember, 127-133.

- Esteban, A., J. M. Zapata, L. Casano, M. Martin dan B. Sabater., 2000, Peroxidase Activity in Aloe Vera barbadensis Commercial Gel: probable Role in Skin Protection, *Planta Medica*, 66: 724-727.
- 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.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C, 2000, *Free Radical in Biology and Medicine*, Oxford University Press, New York.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penerbit ITB, Bandung, 6-7.13-15.72-89
- Hendayana, Sumar, dkk., 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 Pasca Sarjana, UGM, Yogyakarta
- Huang, D., Boxinou, Prior, R.R., 2005, The Chemistry Behind Antioxidant Assay. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 53 No. 6. 1849-4850.
- Jonas *et al.*, 1974, *Syntetica Merck, Band II*, E.Merck, Darmstadt, 184.
- Khopkar, S.M., 2003, *Konsep dasar kimia analitik*, UI press., Jakarta, 191-196, 215-217.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., and Taniguci, H., 2002, Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds, *J. Agric. Food Chem*, 50: 2161-2168.
- Lautan, J., 1997, Radikal Bebas pada Eritrosit dan Leukosit, *Cermin Dunia Kedokteran*, 116, 49-52
- Lestario, Lydia Ninan, Buah Duwet Sumber Antioksidan, Kompas, Kamis 23 Oktober 2003.

- Lydia, S. Wijaya, Simon, B. Widjanarko, Tri Susanto, 2001, Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum*) Var. Binjai, *Biosain*, Vol. 1 No. 2. Agustus
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, 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*, Penerbit ITB, Bandung, 599-600.
- Oshawa, T., Namiki, M., 1994, A Novel Type of Antioxidant Isolated from Leaf Wax of Eucalyptus Leaves, *Journal Agric. Biol Chem.*, 45: 735-739, Department of Food Science and Technology, Nagoya, Japan
- Panovska, Tatjana Kadifkova, 2005, In Vitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Species (Lamiaceae), *Acta Pharm.* (55) 207–214, Skopje, R. Macedonia.
- Pedricelli, P., 2001, Antioxidant Mechanism of Flavonoids, solvent Effects on Rate Constant for Chain Breaking of Quersetin and epicatechin Autoxidation of Methyl Linoleat, *J. Agric. Food Chem*, 49: 3034-3040.
- Pokorni, J., Yanishlieva, N., and 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., Schaich, K., 2005, Standardized Methods for The Determination Of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem*, Vol. 53, No. 6, 1849.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, ITB Bandung, 191-196. 209.

- Rohman, Abdul., Riyanto, Sugeng, 2005, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, L), *Agritech Majalah Ilmu dan Teknologi Pertanian* Vol. 25 No : 3, Fakultas Teknik Pertanian UGM, Yogyakarta, 131-136.
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Kromatografi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta, 26-37.
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Spektroskopi*, Liberty Yogyakarta, 39-42.
- Sibuea, P., 2003, *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*, Sinar Harapan, Yogyakarta.
- Stahl.E., 1985, *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Penerbit ITB, Bandung, 1-17.
- Suyatna, D.F., 1989, Radikal Bebas dan Iskhemia, *Cermin Dunia Kedokteran*, 57, 25-
- Tatjana, K. Panovska, S. Kulevanova, Marina Stefova, 2005, Invitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Species (Lamiaceae), *Acta pharm*, 55, 207-214.
- TriWindono, K. Hendrajaya, H. Nurfatmawati, F. Soraya, 2004, Pengaruh Cara Pengeringan Daun Dewa (*Gynura Pseudo-China* (L.)DC.) Terhadap Kapasitas Peredam Radikal Bebas dari Ekstrak Metanol Simplisianya pada DPPH, *Artocarpus*, Vol. 4 No. 1 Maret : 27-32
- Tjitrosoepomo, G., 1993, *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, UGM Press, Yogyakarta, 298-301.
- Uyan, Seda Ersus, 2003, Effects of Drying Process on Antioxidant Activity of Purple Carrots, *Research Paper of National Library of Medicine's PubMed*, U.S.
- Voight, 1984, *Teknologi Sediaan Farmasi*, UI Press, Jakarta.
- Wagner, H., Blat, S., Zgainski, E.M, 1984, *Plant Drugs Analysis : a Thin Layer Chromatography*, Atlas, Springer, Verlag, Tokyo

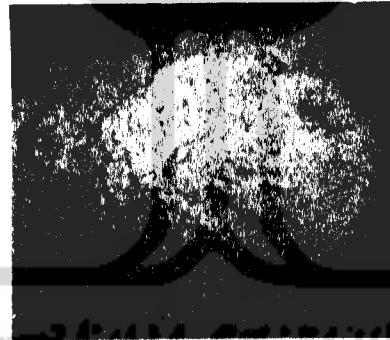
- Widyawati S. Pains, 2005, Potensi Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn) sebagai Penangkap Radikal Bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Agritech Majalah Ilmu dan Teknologi Pertanian*, Vol. 25 No : 3, Fakultas Teknik Pertanian UGM, Yogyakarta, 137-142.
- Wijaya, Lydia S., 2001, Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum*) Var. Binjai, *Biosain*, Vol. 1 no. 2.
- Windono, T., dkk., 2004, Pengaruh Cara Pengeringan Daun Dewa (*Gynura Pseudo-china* (L.)DC.) Terhadap Kapasitas Peredam Radikal Bebas Dari Ekstrak Metanol Simplisianya Pada DPPH( 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil ), *Artocarpus*, Surabaya Vol. 4, No:1, 27-32.
- Youngson, Robert, 1998, *Antioksidan manfaat vitamin C dan E bagi kesehatan*, diterjemahkan oleh Susi Purwoko, Penerbit Arcan, Jakarta, 48-49.  
25
- Yu, L., Scalin, L., Wilson. J., and Schmidt, G., 2002, Rosemary Extracts as Inhibitors of lipid Oxidation and Color Change in Cooked Poultry Products, *JFS*(in press).
- Zee, F.T., 1995, National Clonal Germplasm Repository, *USDA-ARS Hilo*, HI.



Lampiran 1. Pohon rambutan (i) dan serbuk kulit buah rambutan (ii)



(i)



(ii)

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

---

---

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

**SURAT KETERANGAN**  
Nomor:52/ UII/Jur Far/ det/II/2006

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

Nama : Arif Setiadi Tamimy  
NIM : 02613098  
Pada Tanggal : 2 Februari 2006

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.

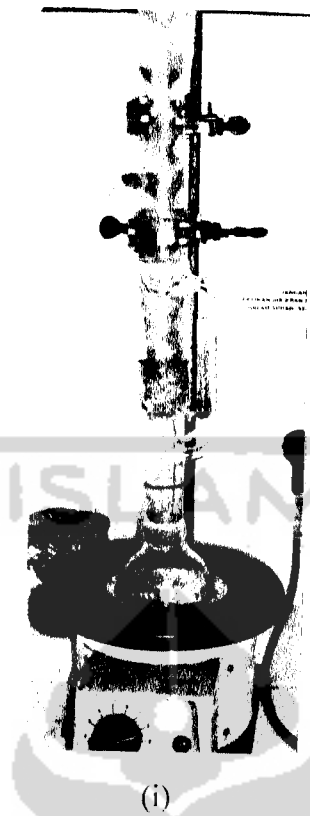
Yogyakarta, 3 Februari 2006  
Bagian Biologi Farmasi  
Kepala



Asih Triastuti, S.F., Apt  
NIP. 03.469/MP



## Lampiran 3. Alat soklet (i) dan hasil kromatogram ekstrak (ii)

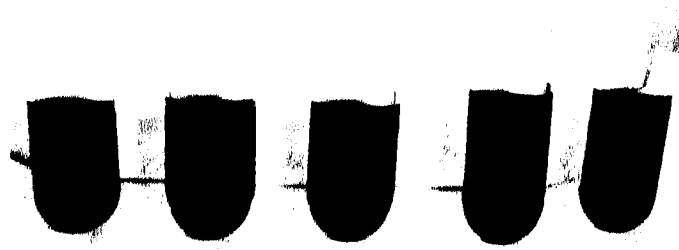


Sinar tampak

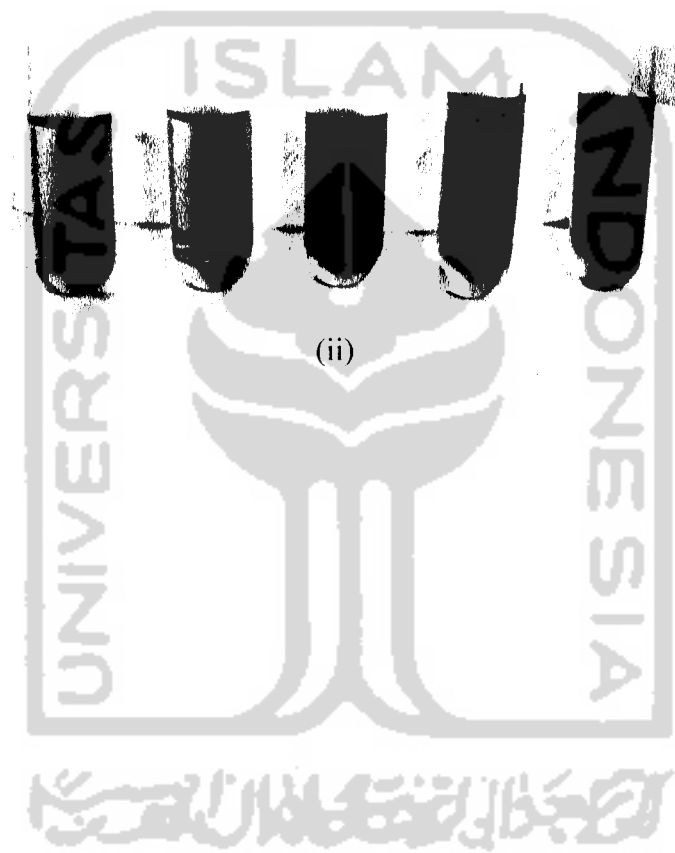
UV 254(Peredaman)  
(ii)

UV 365

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



(i)



(ii)

## Lampiran 5. Analisis Oneway Anova Ekstrak

**Oneway****Descriptives**

## Peredaman Ekstrak

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0.00	3	42.2000	.1002	.4424	40.3566	44.1634	41.40	42.87
1	3	44.5133	.3073	.1774	43.7500	45.2767	44.23	44.84
1.33	3	47.5000	.3119	.1801	46.7251	48.2749	47.17	47.79
1.66	3	50.5733	.1877	.1084	50.1070	51.0396	50.37	50.74
2	3	53.0333	.6976	.4028	51.3004	54.7662	52.46	53.81
Total	15	47.5760	4.0694	1.0507	45.3225	49.8295	41.40	53.81

**Test of Homogeneity of Variances**

## Peredaman Ekstrak

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.513	4	10	.108

**ANOVA**

## Peredaman Ekstrak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	229.236	4	57.309	220.301	.000
Within Groups	2.601	10	.260		
Total	231.838	14			

## Lanjutan lampiran 5. Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Peredaman Ekstrak  
Tukey HSD

(i) Kadar (ug/ml)	(j) Kadar (ug/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0.66	1	-2.2533*	.4164	.002	-3.6239	-.8828
	1.33	-5.2400*	.4164	.000	-6.6106	-3.8694
	1.66	-8.3133*	.4164	.000	-9.6839	-6.9428
	2	-10.7733*	.4164	.000	-12.1439	-9.4028
1	0.66	2.2533*	.4164	.002	.8828	3.6239
	1.33	-2.9867*	.4164	.000	-4.3572	-1.6161
	1.66	-6.0600*	.4164	.000	-7.4306	-4.6894
	2	-8.5200*	.4164	.000	-9.8906	-7.1494
1.33	0.66	5.2400*	.4164	.000	3.8694	6.6106
	1	2.9867*	.4164	.000	1.6161	4.3572
	1.66	-3.0733*	.4164	.000	-4.4439	-1.7028
	2	-5.5333*	.4164	.000	-6.9039	-4.1628
1.66	0.66	8.3133*	.4164	.000	6.9428	9.6839
	1	6.0600*	.4164	.000	4.6894	7.4306
	1.33	3.0733*	.4164	.000	1.7028	4.4439
	2	-2.4600*	.4164	.001	-3.8306	-1.0894
2	0.66	10.7733*	.4164	.000	9.4028	12.1439
	1	8.5200*	.4164	.000	7.1494	9.8906
	1.33	5.5333*	.4164	.000	4.1628	6.9039
	1.66	2.4600*	.4164	.001	1.0894	3.8306

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Homogeneous Subsets

### Peredaman Ekstrak

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kadar (ug/ml)	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
0.66	3	42.2600				
1	3		44.5133			
1.33	3			47.5000		
1.66	3				50.5733	
2	3					53.0333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Lampiran 6. Analisis Oneway Anova vitamin E

## Oneway

## Descriptives

Peredaman Vit E

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0.00	3	38.1633	.1724	9.955E-02	38.0350	38.8917	38.31	38.65
1	3	41.1633	.1150	6.642E-02	40.8776	41.4491	41.05	41.28
1.33	3	42.5333	.1963	.1133	42.0457	43.0210	42.42	42.76
1.66	3	43.6333	.3963	.2288	42.6489	44.6177	43.22	44.01
2	3	45.4200	.1735	.1002	44.9890	45.8510	45.27	45.61
Total	15	42.2427	2.4381	.6295	40.8925	43.5929	38.31	45.61

## Test of Homogeneity of Variances

Peredaman Vit E

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.297	4	10	.335

## ANOVA

Peredaman Vit E

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	82.667	4	20.672	384.700	.000
Within Groups	.537	10	5.373E-02		
Total	83.224	14			

Lanjutan lampiran 6.  
**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Peredaman Vit E

Tukey HSD

(I) Kadar (ug/ml)	(J) Kadar (ug/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0.66	1	-2.7000*	.1893	.000	-3.3229	-2.0771
	1.33	-4.0700*	.1893	.000	-4.6929	-3.4471
	1.66	-5.1700*	.1893	.000	-5.7929	-4.5471
	2	-6.9567*	.1893	.000	-7.5795	-6.3338
1	0.66	2.7000*	.1893	.000	2.0771	3.3229
	1.33	-1.3700*	.1893	.000	-1.9929	-.7471
	1.66	-2.4700*	.1893	.000	-3.0929	-1.8471
	2	-4.2567*	.1893	.000	-4.8795	-3.6338
1.33	0.66	4.0700*	.1893	.000	3.4471	4.6929
	1	1.3700*	.1893	.000	.7471	1.9929
	1.66	-1.1000*	.1893	.001	-1.7229	-.4771
	2	-2.8867*	.1893	.000	-3.5095	-2.2638
1.66	0.66	5.1700*	.1893	.000	4.5471	5.7929
	1	2.4700*	.1893	.000	1.8471	3.0929
	1.33	1.1000*	.1893	.001	.4771	1.7229
	2	-1.7867*	.1893	.000	-2.4095	-1.1638
2	0.66	6.9567*	.1893	.000	6.3338	7.5795
	1	4.2567*	.1893	.000	3.6338	4.8795
	1.33	2.8867*	.1893	.000	2.2638	3.5095
	1.66	1.7867*	.1893	.000	1.1638	2.4095

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**Homogeneous Subsets**

Peredaman Vit E

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kadar (ug/ml)	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
0.66	3	38.4633				
1	3		41.1633			
1.33	3			42.5333		
1.66	3				43.6333	
2	3					45.4200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 7. Analisis Paired Sample T-Test

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

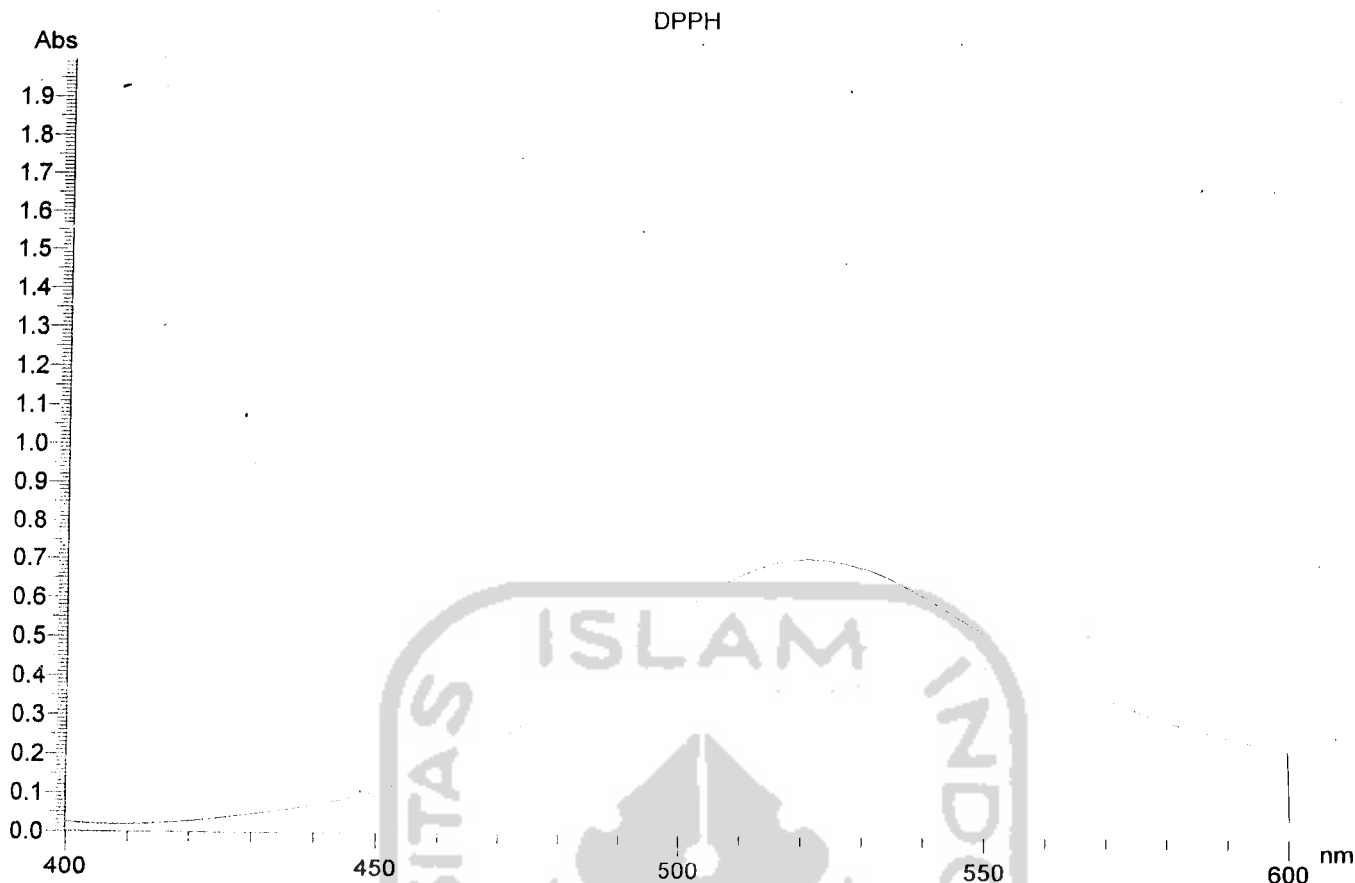
	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 Ekstrak Vitamin E	47.5740	5	4.3697	1.9542
	42.2400	5	2.6260	1.1744

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 Ekstrak & Vitamin E	5	.978	.004

**Paired Samples Test**

	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
Pair 1 Ekstrak - Vitamin E	5.3340	1.8829	.8421	2.9961	7.6719	6.334	4	.003



Sample: DPPH  
File name: Lamda Max DPPH Arif Setiadi Tamimy.UDS  
Run Date: 13:58:44, 02/10/2006  
Operator: Hartanto  
Comment: Arif Setiadi Tamimy

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

Instrument Parameters  
Measurement Type: Wavelength Scan  
Data Mode: Abs  
Starting Wavelength: 600.0 nm  
Ending Wavelength: 400.0 nm  
Scan Speed: 200 nm/min  
Sampling Interval: 0.2 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

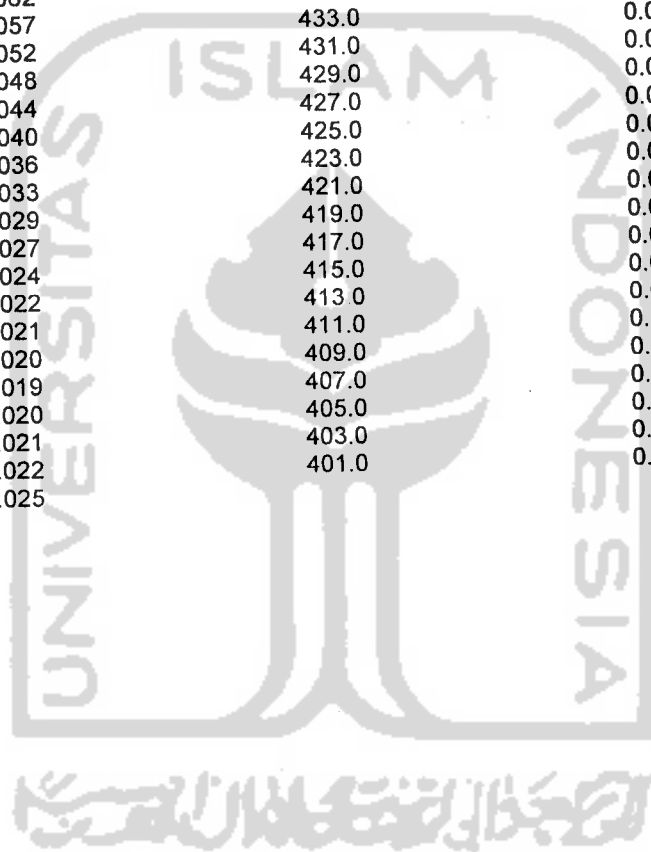
(Abs values are corrected to 10 mm path length)



Data Points nm	Abs	nm	Abs
600.0	0.047	599.0	0.227
598.0	0.230	597.0	0.233
596.0	0.236	595.0	0.240
594.0	0.243	593.0	0.247
592.0	0.251	591.0	0.254
590.0	0.258	589.0	0.261
588.0	0.265	587.0	0.269
586.0	0.273	585.0	0.277
584.0	0.281	583.0	0.286
582.0	0.290	581.0	0.294
580.0	0.299	579.0	0.304
578.0	0.308	577.0	0.313
576.0	0.319	575.0	0.325
574.0	0.331	573.0	0.337
572.0	0.343	571.0	0.349
570.0	0.355	569.0	0.361
568.0	0.368	567.0	0.375
566.0	0.382	565.0	0.389
564.0	0.397	563.0	0.404
562.0	0.412	561.0	0.420
560.0	0.429	559.0	0.437
558.0	0.445	557.0	0.454
556.0	0.462	555.0	0.471
554.0	0.481	553.0	0.490
552.0	0.499	551.0	0.509
550.0	0.518	549.0	0.527
548.0	0.537	547.0	0.547
546.0	0.556	545.0	0.566
544.0	0.575	543.0	0.585
542.0	0.594	541.0	0.604
540.0	0.613	539.0	0.622
538.0	0.630	537.0	0.639
536.0	0.647	535.0	0.655
534.0	0.662	533.0	0.670
532.0	0.676	531.0	0.682
530.0	0.687	529.0	0.690
528.0	0.695	527.0	0.699
526.0	0.702	525.0	0.705
524.0	0.707	523.0	0.709
522.0	0.710	521.0	0.710
520.0	0.709	519.0	0.708
518.0	0.706	517.0	0.704
516.0	0.701	515.0	0.697
514.0	0.692	513.0	0.686
512.0	0.681	511.0	0.674
510.0	0.667	509.0	0.659
508.0	0.651	507.0	0.642
506.0	0.633	505.0	0.623
504.0	0.614	503.0	0.603
502.0	0.592	501.0	0.581
500.0	0.570	499.0	0.559
498.0	0.548	497.0	0.536
496.0	0.525	495.0	0.513
494.0	0.501	493.0	0.489
492.0	0.477	491.0	0.465
490.0	0.453	489.0	0.442
488.0	0.431	487.0	0.419
486.0	0.408	485.0	0.396
484.0	0.385	483.0	0.374
482.0	0.363	481.0	0.352
480.0	0.341	479.0	0.331
478.0	0.320	477.0	0.310
476.0	0.300	475.0	0.290

## Lanjutan lampiran 8.

nm	Abs	nm	Abs
474.0	0.280	473.0	0.270
472.0	0.261	471.0	0.252
470.0	0.243	469.0	0.235
468.0	0.226	467.0	0.218
466.0	0.210	465.0	0.202
464.0	0.194	463.0	0.187
462.0	0.180	461.0	0.172
460.0	0.166	459.0	0.159
458.0	0.153	457.0	0.147
456.0	0.141	455.0	0.135
454.0	0.129	453.0	0.124
452.0	0.119	451.0	0.114
450.0	0.109	449.0	0.105
448.0	0.101	447.0	0.096
446.0	0.093	445.0	0.089
444.0	0.085	443.0	0.082
442.0	0.078	441.0	0.075
440.0	0.072	439.0	0.070
438.0	0.067	437.0	0.064
436.0	0.062	435.0	0.059
434.0	0.057	433.0	0.055
432.0	0.052	431.0	0.050
430.0	0.048	429.0	0.046
428.0	0.044	427.0	0.042
426.0	0.040	425.0	0.038
424.0	0.036	423.0	0.034
422.0	0.033	421.0	0.031
420.0	0.029	419.0	0.028
418.0	0.027	417.0	0.025
416.0	0.024	415.0	0.023
414.0	0.022	413.0	0.021
412.0	0.021	411.0	0.020
410.0	0.020	409.0	0.020
408.0	0.019	407.0	0.019
406.0	0.020	405.0	0.020
404.0	0.021	403.0	0.021
402.0	0.022	401.0	0.023
400.0	0.025		



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	600.0	521.2	400.0	0.710	67.092	400.0	0.025

