

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Genus *Cryptocarya*

Lauraceae merupakan salah satu famili yang besar jumlahnya, ada sekitar 2500 spesies dan tidak kurang dari 381 spesies diantaranya termasuk dalam genus *Cryptocarya*. *Cryptocarya* merupakan genus yang memiliki spesies terbanyak setelah *Litsea* dan *Ocotea* dalam famili Lauraceae (Tanjung, 1991). *Cryptocarya* tumbuh sebagai pohon atau semak dan tersebar di daerah tropis di Asia, Afrika, Australia, dan Melanesia. Tumbuhan ini banyak tumbuh di daerah Sumatera dan sedikit di Jawa Barat. Nama daerah untuk tumbuhan *Cryptocarya* adalah Medang. Spesies *Cryptocarya* yang tumbuh di Sumatera dan Jawa adalah *C. crassinervia* Miq. atau Medang talang (Palembang), Medang batu, Medang Keladi (Sumatera Timur), dan Medang sanggih (Minangkabau, Sumatera Barat). *Cryptocarya ferrea* disebut juga Hurumentek (Jawa Barat), Rasberasan (Madura). Sementara *C. glaucen* dikenal dengan nama Medang serai (Palembang), *C. griffithiana* Wight (*C. infectoria* Miq) adalah Medang buaya dan *C. tomentosa* Bl diberi nama Huru kunyit. Huru tenggek atau Huru tudung (Jawa Barat) (Ogata, 1986).

Selain di Sumatera dan Jawa ternyata di Sulawesi juga dijumpai spesies dari genus ini. *Cryptocarya costata* diidentifikasi sebagai tumbuhan langka, ditemukan di kawasan hutan Sulawesi yang dikenal sebagai kawasan Wollacea. Tumbuhan ini di Sulawesi dikenal dengan nama daerah Tarusu (Bugis), Garate borong (Makassar) dan Baga tomumbu (Keli). Spesies yang dijumpai di Malaysia adalah *C.crassinervia*, *C.ferrea*, *C.griffithiana*, *C. kurzii* dan *C. rugulosa*. Tumbuhan *C. massoia* juga ditemukan di wilayah Indonesia bagian timur dan telah digunakan sebagai ramuan obat tradisional (Heyne, 1987). *C. multipaniculata* digunakan untuk mengobati sakit mata (Lemmens, 1995). Beberapa spesies *Cryptocarya* juga memiliki potensi sebagai anti tumor karena senyawa kimia jenis alkaloid yang dikandungnya (Collins, 1990). Berdasarkan 31 spesies yang telah diteliti, 28 spesies diantaranya mengandung alkaloid (Tanjung, 1991) dan selebihnya metabolit sekunder lain seperti flavonoid, steroid, dan turunan piron.

B. *Cryptocarya ferrea*

Cryptocarya ferrea adalah tumbuhan berupa pohon ukuran sedang, tinggi sampai 22 m dengan diameter 120 cm. Kulit batang coklat kemerahan dan halus. Bagian dalam kulit batang coklat kekuningan sampai coklat kemerahan dan getah berwarna kekuningan. Daunnya memiliki panjang tangkai sekitar 0,7-2 cm,

helai daun berbentuk bulat memanjang dengan ukuran 12-19 x 5-8 cm, ujung daunnya ada yang tajam dan tumpul, permukaan lebih bawah sedikit berbulu. Buahnya hijau keunguan bila menjadi matang, dan berbentuk bulat. Tumbuhan ini tersebar di wilayah Malaysia (Kedah, Kelantan, Terengganu, Pahang, Selangor) dan Indonesia (daerah Jawa). Gambar daun *Cryptocarya ferrea* ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Daun *Cryptocarya ferrea* (Kwan, 2013)

Adapun klasifikasi tumbuhan *Cryptocarya ferrea* berdasarkan Herbarium Bandungese adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Cryptocarya</i>
Spesies	: <i>Cryptocarya ferrea</i>

Penelitian terhadap *Cryptocarya ferrea* telah dilakukan oleh Budiono (1993) yaitu mengisolasi metabolit sekunder dari kulit batang *Cryptocarya ferrea* menggunakan teknik perkolasi dengan pelarut *n*-heksan, dilanjutkan dengan pelarut metanol. Hasil partisi ekstrak metanol dengan kloroform didapatkan tiga senyawa, yaitu senyawa 5,7-dihidroksiflavanon dan dua senyawa yang merupakan turunan flavanoid.

C. Fitokimia Tumbuhan Genus *Cryptocarya*

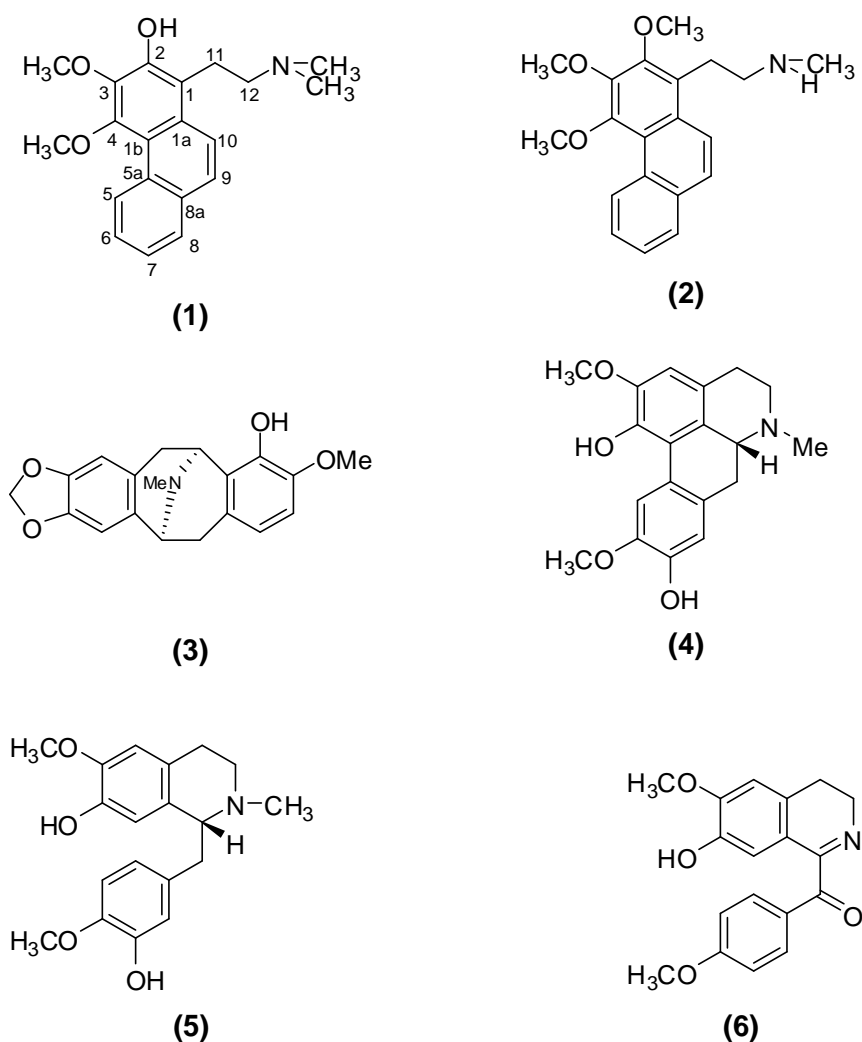
Cryptocarya merupakan genus yang mempunyai tingkat evolusinya paling tinggi diantara 31 genus Lauraceae dan yang paling banyak variasi senyawa metabolit sekundernya. Metabolit sekunder dari genus *Cryptocarya* yang sudah berhasil diisolasi dan ditentukan strukturnya diantaranya dari golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid.

1. Senyawa Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa yang banyak terdapat pada tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai sistem lingkaran heterosiklik dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Beberapa senyawa alkaloid memiliki sifat sebagai antibakteri, antijamur, dan antivirus (Sumardjo, 2008).

Senyawa golongan alkaloid yang berhasil diisolasi dari genus *Cryptocarya* diantaranya 2-hidroksiantherosperminin (**1**); *N*-

dementil-2-metoksiantherosperminin **(2)**; yang telah diisolasi dari *Cryptocarya crassinervia* (Awang *et al.*, 2008), neokaryasin **(3)** yang diisolasi dari *Cryptocarya chinensis* (Lee *et al.*, 1990), isoboldin **(4)** dan retikulin **(5)** yang telah diisolasi dari *Cryptocarya densiflora* (Tanjung, 1991); velucryptin **(6)** yang diisolasi dari *Cryptocarya velutinoso* (Lebeuf *et al.*, 1989).



Gambar 2. Struktur Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Genus *Cryptocarya*. Keterangan gambar ada dalam teks. (Awang *et al.*, 2008), (Lee *et al.*, 1990), (Tanjung *et al.*, 1991), dan (Lebeuf *et al.*, 1989).

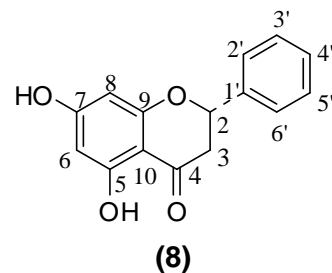
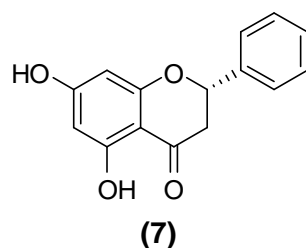
2. Senyawa Flavonoid

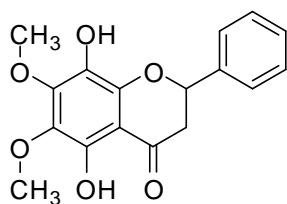
Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$. Senyawa ini biasanya sebagai pigmen tumbuhan untuk menarik *pollinators* dan sebagai bahan pertahanan bagi tumbuhan untuk melawan serangga dan mikroorganisme. Selain itu, flavonoid juga dapat digunakan sebagai antibakteri, anti mikroba, antikanker, antivirus, dan antitumor.

Senyawa golongan flavonoid yang berhasil diisolasi dari genus *Cryptocarya* diantaranya adalah

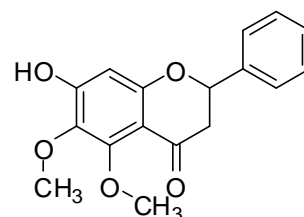
a. Senyawa flavanon

Pinosembrin **(7)** yang telah diisolasi dari *Cryptocarya konishii* (Kurniadewi *et al.*, 2009); 5,7 dihidroksi flavanon **(8)** yang telah diisolasi dari *Cryptocarya ferrea* (Budiono, 1993); didymocarpin **(9)**; 7-hidroksi-5,6-dimetoksiflavanon **(10)** yang telah diisolasi dari *Cryptocarya costata* (Hanapi *et al.*, 2005).





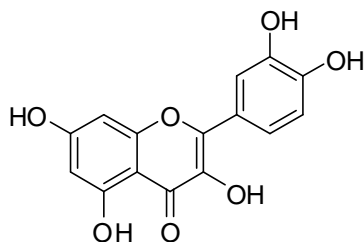
(9)



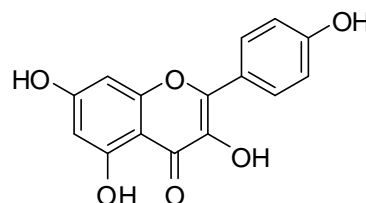
(10)

Gambar 3. Struktur Senyawa Flavanon Hasil Isolasi dari Genus *Cryptocarya*. Keterangan gambar ada dalam teks. (Kurniadewi *et al.*, 2009), (Budiono, 1993) dan (Hanapi *et al.*, 2005).

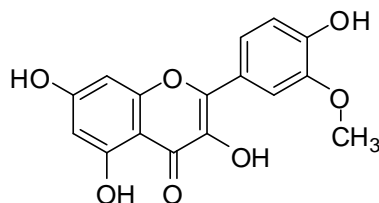
b. Senyawa flavonol



(11)



(12)



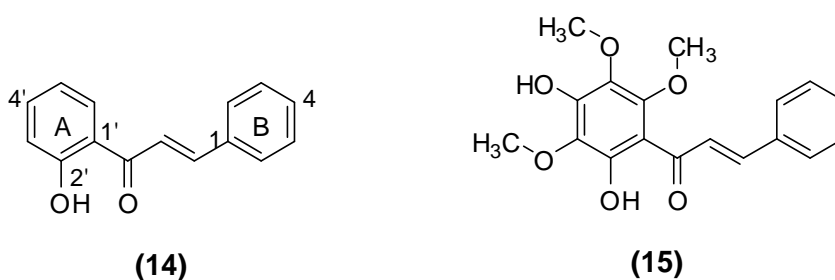
(13)

Gambar 4. Struktur Senyawa Flavonol Hasil Isolasi dari Genus *Cryptocarya*. Keterangan gambar ada dalam teks. (Timmermann *et al.*, 1995).

Beberapa turunan senyawa flavonol yang berhasil diisolasi diantaranya adalah kuersetin (11), kaempferol (12), isorhamnetin (13) yang telah diisolasi dari *Cryptocarya alba* (Timmermann *et al.*, 1995).

c. Senyawa calkon

Senyawa calkon yang berhasil diisolasi dari genus *Cryptocarya* diantaranya 2'-hidroksicalkon (**14**) yang telah diisolasi dari *Cryptocarya konishii* (Kurniadewi *et al.*, 2009); isodidymocarpin (**15**) yang telah diisolasi dari *Cryptocarya costata* (Hanapi *et al.*, 2005).



Gambar 5. Struktur Senyawa Calkon Hasil Isolasi dari Genus *Cryptocarya*. Keterangan gambar ada dalam teks. (Kurniadewi *et al.*, 2009); (Hanapi *et al.*, 2005).

3. Senyawa Steroid

Senyawa steroid adalah senyawa yang mempunyai kerangka dasar karbon, yang kebanyakan strukturnya terdiri atas 17 atom karbon dengan tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Ditinjau dari segi strukturnya, perbedaan antara kelompok steroid ditinjau oleh jenis substituen R_1 , R_2 , R_3 yang terikat pada kerangka dasar karbon (Achmad, 1986). Senyawa steroid memiliki peranan penting dalam kehidupan seperti antibiotik, vitamin D, dan berperan dalam hormon seperti hormon kortikoid.

Senyawa golongan steroid yang berhasil diisolasi dari tumbuhan genus *Cryptocarya* diantaranya adalah β -sitosterol (**16**)

Senyawa golongan terpen yang berhasil diisolasi dari tumbuhan genus *Cryptocarya* antara lain :

a. Seskuiterpen

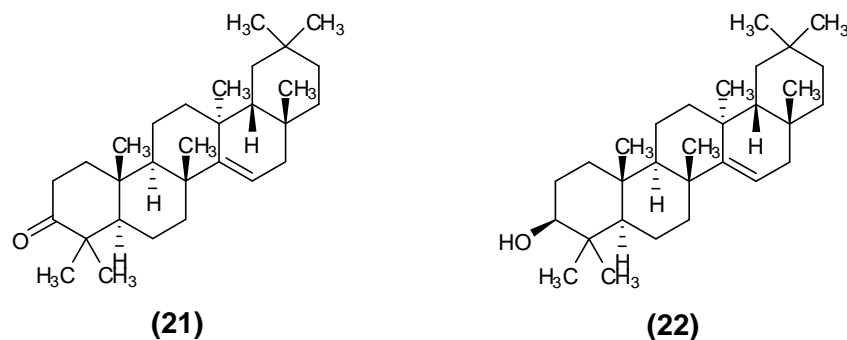
Senyawa golongan seskuiterpen yang berhasil diisolasi adalah pseudolinderadin **(19)**; linderan **(20)** yang telah diisolasi dari *Cryptocarya densiflora* (Achmad *et al.*, 1992)



Gambar 7. Struktur Senyawa Seskuiterpen Hasil Isolasi dari Genus *Cryptocarya*. Keterangan gambar ada dalam teks. (Achmad *et al.*, 1992).

b. Triterpen

Senyawa triterpen yang berhasil diisolasi diantaranya adalah tarakseron **(21)**; tarakserol **(22)** yang telah diisolasi dari *Cryptocarya crassinervia* (Achmad *et al.*, 1994).



Gambar 8. Struktur Senyawa Triterpenoid Hasil Isolasi dari Genus *Cryptocarya*. Keterangan gambar ada dalam teks (Achmad *et al.*, 1994).

D. Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan (Fessenden & Fessenden, 1986). Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron dalam mencapai kestabilan atom atau molekul. Oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka apabila terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel. Reaksi ini berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan bila tidak dapat dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya. Pencegahan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas memerlukan antioksidan untuk menghambat dan menghentikan reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Dengan adanya antioksidan atau inhibitor radikal bebas, maka spesi radikal bebas akan terperangkap dengan cara bereaksi dengan antioksidan membentuk radikal bebas tak reaktif (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas. Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan untuk memelihara fungsi fisiologis tubuh. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan alami

(antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) (Pokorni, 2001).

Antioksidan alami diperoleh dari bahan alam seperti dari tumbuh-tumbuhan yang merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan seperti senyawa golongan fenolik, flavonoid, terpenoid dan steroid. Antioksidan alami terbesar di beberapa bagian tumbuhan, seperti pada kayu, akar, daun, buah, biji dan serbuk sari (Pokorni, 2001).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat dan lain-lain. Senyawa antioksidan polifenolik adalah multifungsi dan dapat bereaksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, dan pengkelat logam.

Beberapa contoh antioksidan sintetik yang penggunaannya telah menyebar diantaranya adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propel galat, tersier butil hidroksi quinon (TBHQ), dala lain-lain. Antioksidan sintetik telah sepenuhnya diuji reaksi toksisitasnya, tetapi beberapa menjadi toksik setelah

penggunaan dalam waktu yang lama (Takashi dan Takayuni, 1997).

Berdasarkan mekanisme kerja, antioksidan digolongkan menjadi dua, yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer yaitu antioksidan yang bekerja dengan mencegah reaksi berantai pembentukan radikal bebas dengan mengubahnya menjadi senyawa yang tidak reaktif. Antioksidan ini dapat berperan sebagai donor hidrogen atau akseptor elektron. Contoh antioksidan primer adalah BHT (Winarno, 1992).

Antioksidan sekunder adalah antioksidan yang bekerja dengan menghambat kerja peroksidan (penyebab oksidasi) seperti panas, UV *light* dan ion logam. Mekanisme reaksi dapat berupa penyerapan sinar UV atau deaktivator ion logam dengan cara pembentukan ion kompleks. Contoh antioksidan sekunder yaitu EDTA dan asam sitrat.

E. Isolasi Bahan Alam

Isolasi adalah suatu teknik pengambilan zat aktif dari campurannya yang terdapat dalam suatu bahan. Isolasi bahan alam adalah metode pengambilan suatu senyawa tertentu dari suatu tumbuhan yang diinginkan. Berdasarkan proses isolasi terdapat beberapa tahapan yang harus dilakukan, yaitu ekstraksi, pemisahan (kromatografi), dan pemurnian.

Ekstraksi adalah metode penarikan suatu senyawa dari campurannya. Penarikan melalui teknik ini menggunakan pelarut yang disesuaikan dengan kepolaran sampel. Pelarut yang umum digunakan diantaranya pelarut polar seperti metanol dan etanol; pelarut semi polar seperti kloroform, dietil eter, diklorometana; pelarut non polar seperti *n*-heksana dan petroleum eter.

Berdasarkan temperatur, teknik ekstraksi dibagi menjadi dua, yaitu ekstraksi tanpa pemanasan dan ekstraksi dengan pemanasan. Ekstraksi tanpa pemanasan dapat dilakukan melalui metode maserasi dan perkolasi, sedangkan ekstraksi dengan pemanasan dilakukan melalui metode sokletasi dan refluks.

Maserasi merupakan proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar. Dalam proses perendaman terjadi kontak antara sampel dengan pelarut, lalu pelarut akan terdistribusi secara terus menerus ke dalam sel tumbuhan yang mengakibatkan perbedaan di dalam dan di luar sel. Metode maserasi ini sangat menguntungkan karena pengaruh suhu dapat dihindari, suhu yang tinggi kemungkinan akan mengakibatkan terdegradasinya senyawa-senyawa metabolit sekunder dan peralatan maupun pengerjaan yang digunakan sederhana (Djarwis, 2004).

Kromatografi adalah teknik pemisahan fisik suatu campuran zat-zat kimia yang didasarkan atas perbedaan distribusi komponen/

senyawa diantara dua fasa, yaitu fasa gerak dan fasa diam. Pada pemisahan senyawa kimia bahan alam digunakan beberapa metode kromatografi. Metode kromatografi yang digunakan pada penelitian ini adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Vakum Cair (KVC) dan Kromatografi Radial (Kromatotron).

a. Kromatografi Vakum Cair (KVC)

Kromatografi Vakum Cair merupakan pengembangan dari kromatografi kolom konvensional. Pada kromatografi vakum cair, fraksi-fraksi yang ditampung biasanya bervolume jauh lebih besar dibandingkan dengan fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom biasa. Langkah pemisahan menggunakan kromatografi vakum cair biasanya dilakukan pada tahap awal pemisahan (pemisahan terhadap ekstrak kasar yang diperoleh langsung dari proses ekstraksi). Sampel dibuat serbuk bersama adsorben (impregnasi) dan dimasukkan ke bagian atas kolom, kemudian dihisap secara perlahan-lahan. Kolom dielusikan dengan pelarut yang selanjutnya kolom akan dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi (Alfinda, 2008).

Prinsip kerja kromatografi vakum cair bertujuan untuk mengisolasi komponen kimia dalam jumlah yang banyak, berdasarkan absorpsi dan partisi, dimana kolom diisi dengan fase diam divakumkan dengan suatu pompa vakum agar eluen dapat turun mengelusi komponen kimia yang selanjutnya keluar sebagai

fraksi-fraksi. Untuk eluen yang digunakan dalam kromatografi ini diawali dari eluen yang mempunyai tingkat kepolaran rendah kemudian kepolarannya ditingkatkan secara perlahan-lahan (Alfinda, 2008).

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi cair-cair dimana menggunakan fasa diam lempeng gelas atau aluminium yang dilapisi dengan lapis tipis alumina, silika gel atau bahan serbuk lainnya dan fasa gerak berupa pelarut cair yang mengalir melalui penyerap padat fasa diam dan akan mengelusi senyawa-senyawa dalam sampel. Kepolaran senyawa-senyawa dalam sampel berpengaruh terhadap pemilihan eluen. KLT merupakan cara analisis cepat yang memerlukan bahan yang sedikit (Markham, 1988).

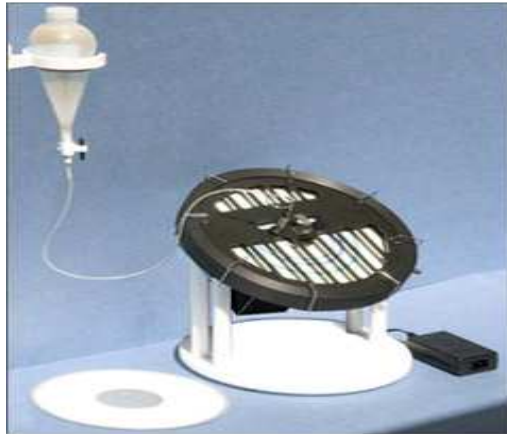
Tahapan awal KLT adalah cuplikan yang akan dipisahkan ditotolkan pada lapisan tipis yang nantinya akan diabsorpsi oleh zat penyerap dan kemudian dielusi oleh fasa gerak. Senyawa yang memiliki polaritas hampir sama dengan fasa geraknya akan terelusi terlebih dahulu dibandingkan senyawa dengan sifat polaritas yang berbeda dengan fasa geraknya (Shellard, 1975).

Identifikasi senyawa pada kromatogram dapat dilakukan dengan melihat noda di bawah sinar UV atau dengan menyemprotkan pereaksi warna sesuai dengan jenis senyawa yang

dianalisis. Secara ringkas, kromatografi lapis tipis memiliki tujuan dalam hal mencari pelarut yang sesuai untuk tahapan kromatografi kolom maupun kromatografi vakum cair, analisis fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom maupun KVC dan juga untuk identifikasi senyawa atau uji kemurnian (Kristanti dkk, 2008).

c. Kromatotron

Kromatotron memiliki prinsip dengan aliran fase gerak yang dipercepat oleh gaya *centrifugal*. Kromatografi jenis ini menggunakan rotor yang dimiringkan dan terdapat dalam ruang tertutup oleh plat kaca kuarsa, sedangkan lapisan penyerapnya berupa plat kaca yang dilapisi oleh silika gel. Plat tersebut dipasang pada motor listrik dan diputar dengan kecepatan 800 rpm. Pelarut pengelusi dimasukkan ke bagian tengah pelarut melalui pompa torak sehingga dapat mengalir dan merambat melalui lapis tipis karena gaya sentrifugal. Untuk mengetahui jalannya proses elusi dimonitor dengan lampu UV. Pemasukan sampel diikuti dengan pengelusan yang menghasilkan pita-pita komponen berupa lingkaran sepusat. Kemudian fraksi akan terpisah keluar dengan gaya sentrifugal dan ditampung dalam botol fraksi yang kemudian diidentifikasi dengan KLT (Kristanti dkk, 2008).



Gambar 9. Alat Kromatotron (T-Squared Technology, Inc., 2012).

Pada tahap selanjutnya setelah didapatkan senyawa murni hasil proses isolasi kemudian ditentukan struktur molekulnya menggunakan data spektrofotometri UV-Vis, spektroskopi infra merah (IR) dan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* ($^1\text{H-NMR}$).

Spektroskopi inframerah adalah teknik yang didasarkan adanya vibrasi dari suatu molekul. Spektrometer ini secara otomatis akan membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu. Radiasi yang diserap oleh molekul muncul sebagai pita pada spektrum. Identifikasi awal dalam penentuan struktur suatu senyawa dapat dilihat dari serapan gugus fungsi hasil analisis inframerah. Setiap senyawa akan memberikan serapan yang khas pada rentang panjang gelombang tertentu (Fatimah, 2008).

Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti atau NMR merupakan metode yang didasarkan pada momen magnet dari inti atom.

Momen magnet dari suatu inti atom dipengaruhi oleh atom-atom yang ada di dekatnya, sehingga atom yang sama dapat mempunyai momen magnet yang berbeda bergantung pada lingkungannya. Bila inti atom diletakkan diantara kutub-kutub magnet yang sangat kuat, inti akan mensejajarkan medan magnetiknya sejajar (paralel) atau melawan (antiparalel) dengan medan magnet. Sifat inilah yang digunakan dalam menentukan struktur suatu molekul. Inti yang paling penting dalam penetapan struktur senyawa organik yaitu ^1H dan ^{13}C (Fatimah, 2008).

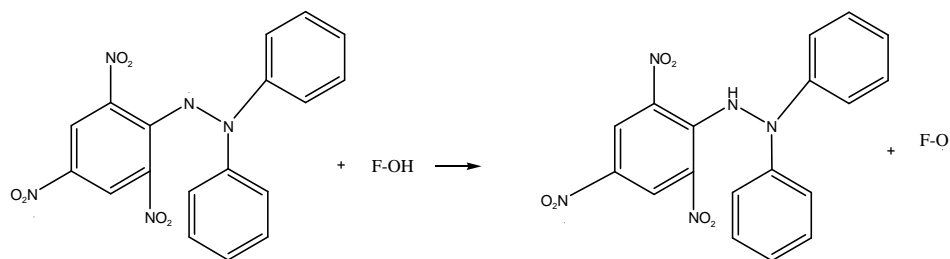
F. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode, diantaranya adalah metode 2,2 *diphenyl-1 picrylhydrazil* (DPPH) dan *Reducing Power*. Metode DPPH merupakan metode yang paling sering digunakan dalam uji aktivitas antioksidan dari berbagai jenis tumbuhan obat. Pemilihan metode DPPH untuk penentuan aktivitas antioksidan, didasarkan pada beberapa keunggulannya, diantaranya mudah, sederhana, cepat, reproduibel, baik untuk sampel dengan polaritas tertentu, sensitif, dan hanya membutuhkan sedikit sampel (Koleva *et al.* 2002).

Prinsip dari metode ini adalah adanya donasi atom hidrogen dari substansi yang diujikan pada radikal DPPH menjadi senyawa

non radikal difenilpikrilhidrazin yang akan ditunjukkan oleh perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004). Sebagai akibatnya maka penambahan senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal akan menurunkan konsentrasi DPPH tersebut.

Intensitas perubahan warna yang terjadi kemudian diukur pada spektrum absorpsi antara 515-520 nm pada larutan organik (methanol atau etanol) (Molyneux, 2004). Pemilihan penggunaan metanol yang bersifat lebih polar dibandingkan etanol sebagai pelarut diharapkan lebih dapat mempertahankan kestabilan DPPH.

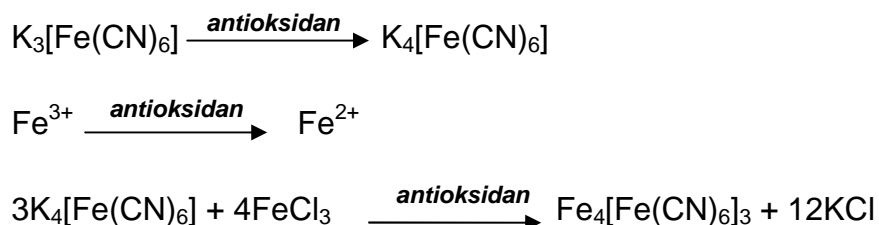


Gambar 10. Mekanisme Reaksi Penangkapan Radikal DPPH (Munim, dkk., 2008)

Antioksidan pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah antioksidan sintetik yaitu BHT dan antioksidan alami berupa asam askorbat. Pemilihan BHT dan asam askorbat sebagai standar digunakan untuk membandingkan aktivitas antioksidan pada BHT dan asam askorbat dengan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam sampel. Fungsi BHT hampir sama seperti vitamin E, yaitu sebagai zat yang mencegah reaksi autooksidasi atau oksidasi yang disebabkan oleh O_2 dari udara.

Parameter yang biasa digunakan untuk menunjukkan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan radikal DPPH adalah nilai konsentrasi penghambatan efisien atau *Inhibition Concentration* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH dan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50% (Brand-William *et al.*, 1995). Aktivitas antioksidan dikatakan sangat kuat bila nilai IC₅₀ lebih kecil dari 50 µg/mL, kuat bila nilai IC₅₀ antara 50-100 µg/mL, bernilai sedang bila nilai IC₅₀ antara 100-150 µg/mL, dan dikatakan lemah bila IC₅₀ antara 151-200 µg/mL.

Metode *Reducing Power* adalah uji lain yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan dapat menyumbangkan elektron kepada radikal bebas, sehingga mereduksi menjadi spesi yang lebih stabil dan tidak reaktif (Gulcin *et al.*, 2003). Dalam metode ini, reduktor (antioksidan) dalam sampel akan mereduksi Fe³⁺ dalam bentuk kompleks K₃[Fe(CN)₆] menjadi Fe²⁺ dalam bentuk kompleks K₄[Fe(CN)₆], sehingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi hijau-biru.



Gambar 11. Persamaan Reaksi Metode *Reducing Power* (Bhalodia *et al.*, 2013).

Kekuatan pereduksi dapat ditentukan dengan mengukur pembentukan kompleks secara spektrofotometri pada panjang gelombang 700 nm. Dalam metode reducing power, penambahan asam trikloroasetat 10% ke dalam larutan bertujuan agar kalium ferrosianida mengendap dan dapat dipisahkan. Proses pemisahannya dibantu dengan sentrifugasi. Kemudian supernatan yang diambil direaksikan dengan larutan FeCl_3 0,1% untuk membentuk kompleks berwarna biru sehingga kompleks dapat diukur pada spektrofotometri pada panjang gelombang 700 nm (Shahidi dan Nazek, 2004).

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa berkorelasi dengan kapasitas pereduksinya, maka metode ini merupakan metode yang dapat dipercaya untuk mengukur potensi aktivitas antioksidan dari berbagai campuran senyawa (Firuzi *et al.*, 2005). Parameter yang digunakan untuk menunjukkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *Reducing Power* adalah nilai konsentrasi efisien. IC_{50} merupakan konsentrasi dimana nilai absorbansi sampel diperoleh 0,500. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi akan mempunyai nilai IC_{50} yang rendah.