

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN EKSTRAK AIR BUAH PALA (Myristica Fragan Houtt) DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Tugas Akhir II

disusun dalam rangka penyelesaian untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Prodi Kimia

> oleh Gigih Mitayani 4350405042

UNNES

JURUSAN KIMIA FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

2010

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Tugas Akhir II ini telah disetujui oleh Pembimbing untuk diajukan ke Sidang Panitia Ujian Tugas Akhir II Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Semarang, 20 Februari 2010
Pembimbing I, Pembimbing II,

<u>Drs. Sukirno, Apt.</u> NIP.194512251975011001 M. Alauhdin, SSi. M.Si NIP. 198101082005011002



PENGESAHAN

Skripsi/Tugas Akhir II yang berjudul

Uji Aktivitas Antioksidan Ektrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala (*Myristica Fragan Houtt*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

disusun oleh

Nama : Gigih Mitayani

NIM : 4350405042

telah dipertahankan di hadapan Sidang Panitia Ujian Skripsi/Tugas Akhir FMIPA Universitas Negeri Semarang pada tanggal 25 Februari 2010.

Panitia:

Ketua Sekretaris

Dr. Kasmadi I.S., M.S Drs. Sigit Priatmoko, M. Si 195111151979031001 196504291991031001

Ketua Penguji

PERPUSTAKAAN

Prof. Drs. Achmad Binadja, Apt, Ph.D 130805079

Anggota Penguji/ Anggota Penguji/ Pembimbing Utama Pembimbing Pendamping

Drs. Sukirno, Apt. M. Alauhdin, SSi. M.Si 194512251975011001 196101071991022001

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa yang tertulis dalam Tugas Akhir II ini benarbenar hasil karya saya sendiri, bukan jiplakan dari karya tulis orang lain, baik sebagian atau seluruhnya. Pendapat atau temuan orang lain yang terdapat dalam Tugas Akhir ini dikutip atau dirujuk berdasarkan kode etik ilmiah.



MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:

"Sebush sukses lahir bukan karena kebetulan atau keberuntungan semata, sebuah sukses terwujud karena diikhtiarkan melalui perencanaan yang matang, keyakinan, kerja keras, keuletan dan niat yang baik".

PERSEMBAHAN:

Mamah dan Papah tercinta, terimakasih atas kasih sayang, doa serta segenap dukungan yang telah diberikan selama ini.

Adikku Dini n Pupunx, kakakku mbak Nik dan mas Adi dan seluruh keluarga besarku yang telah memberikan dukungan, semangat serta motivasi.

Seseorang yang senantiasa selalu ada untukku, terimakasih atas doa dan dukungannya selama ini.

Temen-temen chem'05 yang telah memberi warna dalam kehidupanku.

UNNES

KATA PENGANTAR

Alhamdulilah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir II dengan Judul 'Uji Aktivitas Antioksidan Ektrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala (*Myristica Fragan Houtt*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)' untuk mencapai derajat sarjana S-1 Kimia di Universitas Negeri Semarang.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, baik dalam penelitian maupun penyusunan Tugas Akhir II. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

- 1. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- 2. Drs. Sigit Priatmoko, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- 3. Drs. Sukirno, Apt, selaku Pembimbing I yang telah membimbing dan mengarahkan Tugas Akhir II ini.
- 4. M. Alauhdin, SSi. M.Si, selaku Pembimbing II yang telah membimbing dan mengarahkan Tugas Akhir II ini.
- 5. Prof. Achmad Binadja, PhD, selaku Penguji utama yang telah memberikan masukan sehingga Tugas Akhir II ini dapat lebih baik.
- 6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA UNNES yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis.
- 7. Kepala Laboratorium KIMIA FMIPA Universitas Negeri Semarang, beserta semua teknisi dan laboran (Pak Widji, Mbak Yuan, Mas Huda) yang telah membantu dalam penelitian ini.
- 8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam penyusunan Tugas Akhir II ini.

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, mudah-mudahan Tugas Akhir II ini dapat bermanfaat dan memberikan konstribusi positif bagi perkembangan ilmu pengetahuan dalam dunia penelitian.

Semarang, Februari 2010



ABSTRAK

Gigih, Mitayani.2010. **Uji Aktivitas Ektrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala** (*Myristica Fragan Houtt*) **dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).** Tugas Akhir II. Jurusan Kimia. FMIPA UNNES. Pembimbing I: Drs. Sukirno, Apt. Pembimbing II: M. Alauhdin, SSi. M.Si.

Kata Kunci: Ekstrak Etanol, Ekstrak Air, DPPH, Buah Pala, Antioksidan.

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala dengan metode DPPH(1,1-difenil-2pikrilhidrazil). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala dengan metode DPPH, mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala dengan variasi lama waktu perendaman dan volume perendam yang dinyatakan dengan IC₅₀ dan mengetahui kandungan kimia dalam ekstrak buah pala yang mempunyai aktivitas antioksidan. Lama waktu perendaman atau maserasi dan volume perendam dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Hasil IC₅₀ (aktivitas antioksidan) dari ekstrak etanol buah pala dengan volume perendam 150 ml etanol dan lama perendaman 4jam, 6jam, 8jam secara berturut-turut adalah 6,89 %; 6,65%; 6,13%. Sedangkan hasil IC₅₀ (aktivitas antioksidan) dari ekstrak etanol buah pala dengan volume perendam 300 ml etanol lama perendaman 4jam, 6jam, 8jam secara berturut-turut adalah 11,99%; 9,01%; 7,76%. Hasil uji kandungan kimia menunjukkan bahwa pada buah pala terdapat vitamin C dan alkaloid sedangkan pada pengujian antrakinon dan flavonoid menunjukkan hasil negatif. Nilai IC₅₀ ekstrak air buah pala adalah 2,36% dan baku pembanding yaitu vitamin C adalah 0,92%. Terdapat perbedaan antara ekstrak etanol dan ekstrak air dari buah pala yaitu pada ekstrak air buah pala aktivitas antioksidannya lebih besar daripada ekstrak etanol buah pala tetapi masih lebih baik kandungan dari vitamin C.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTAR	
ABSTRAK	
DAFTAR ISI	
DAFTAR GAMBAR	X
DAFTAR TABEL	хi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Buah Pala	6
2.2 Antioksidan	8
2.3 Sifat-sifat Antioksidan	
2.4 Mekanisme Kerja Antioksidan	14
2.5 Vitamin C	16
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan	17
2.7 Spektrofotometri Sinar Tampak	19
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Lokasi Penelitian	23
3.2 Variabel	23
3.3 Alat dan Bahan	24
3.4 Cara Kerja	25

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Buah Pala	25
3.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH	27
3.5 Analisis Data	31
3.5.1 Penentuan Panjang Gelombang maksimal (λ max)	31
3.5.2 Penentuan Operating Time (Pada λ max)	31
3.5.3 uji Aktivitas Antioksidan	32
3.5.4 Data Persentase Aktivitas Antioksidan dan IC ₅₀	33
3.5.5 Pemeriksaan Kandungan Kimia	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Pembuatan Ekstrak Buah Pala	35
4.2 Uji aktivitas Antioksidan	36
4.3 Pemeriksaan Kandungan Kimia	42
BAB V PENUTUP	46
5.1 Simpulan	46
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48

PERPUSTAKAAN UNNES

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Pala	Ć
Gambar 2.2 Struktur Kimia Vitamin C	16
Gambar 2.3 Struktur Kimia DPPH	18
Gambar 2.4. Grafik hubungan antara serapan dan kadar suatu analit	21
Gambar 4.1 Spektrum Absorbsi larutan DPPH 0,004 %	36
Gambar 4.2 Grafik Penentuan Operating Time	37
Gambar 4.3 Grafik nilai IC_{50} dari ekstrak buah pala dan vitamin C	39
Gambar 4.4 Struktur kimia senyawa a. Antrakinon, b. Flavonoid, c. Suatu	
Alkaloid, d. Vitamin C	45



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Contoh Antioksidan Untuk Produk Pangan di Beberapa Negara	11
Tabel 2.2 Inhibitor Seluler Oksidasi Lemak	11
Tabel 2.3 Spektrum Sinar Tampak dan Warna Komplementer	20
Tabel 4.1 Absorbansi Blanko Pelarut Etanol dan Blanko Pelarut Air	38
Tabel 4.2 Data Persen Aktivitas Antioksidan dan IC ₅₀	41
Tabel 4.3. Hasil Pemeriksaan Kandungan Kimia	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja	51
Lampiran 2 Pembuatan Larutan Uji	60
Lampiran 3 Perhitungan Persentase Aktivitas Antioksidan	64
Lampiran 4 Perhitungan IC ₅₀	67
Lampiran 5 Foto Penelitian	71
Lampiran 6 Surat Keterangan Penelitian Di Laboratorium Kimia	73
Lampiran 7 Surat Keterangan Pengambilan Bahan Di PT PN IX	74
Lampiran 8 Surat Keterangan Pembelian Bahan DPPH Di UGM	75



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara penghasil komoditi holtikultura, seperti buahbuahan, sayur-sayuran dan bunga-bungaan. Komoditi holtikultura setelah dipanen akan mengalami perubahan kimia maupun fisika. Perubahan-perubahan yang umum terjadi adalah perubahan kandungan karbohidrat, warna, tekstur, kandungan asam, dan lain-lain. Perubahan tersebut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada komoditinya. Menurut Salunkhe dan Desai (1984) di negara tropis kerusakan dan kehilangan komponen pada sayuran dapat berkisar antara 22-78 % (Anggraini,1993).

Salah satu kandungan penting dalam komoditi hortikultura adalah antioksidan walau tidak semua mengandung antioksidan. Senyawa antioksidan memiliki peranan yang penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Antioksidan bermanfaat dalam pengobatan berbagai penyakit yang terkait baik secara langsung maupun tidak langsung dengan radikal bebas. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuanya menangkap radikal bebas (Prakash,2001).

Penggunaan senyawa antioksidan berkembang dengan pesat, baik untuk makanan maupun pengobatan. Penggunaannya sebagai obat semakin meningkat

dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan kanker (Hanani *dkk*, 2005).

Sebagian besar penyakit mematikan dan menyebabkan kerusakan tubuh disebabkan oleh radikal bebas. Selama bertahun-tahun para ahli kimia telah mengetahui bahwa aktivitas oksidasi oleh radikal bebas dapat dikendalikan atau bahkan dicegah oleh berbagai bahan antioksidan (Youngson, 2005).

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang bermuatan listrik, dan untuk mengembalikan kesetimbangannya maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan (Dalimartha & Soedibyo, 1998).

Tanaman pala (*Myristica fragrans Houtt*) merupakan tanaman asli Indonesia, tanaman ini dikenal sebagai tanaman rempah sejak abad ke 18. Sampai saat ini Indonesia merupakan produsen pala terbesar di dunia (70-75%). Negara produsen lainnya adalah Grenada sebesar 20-25%, kemudian selebihnya India, Srilanka dan Malaysia.

Semua bagian buah pala dapat dijadikan bahan olahan yang memiliki nilai ekonomis. Biji dan fuli pala kering merupakan dua bentuk komoditas pala di pasar Internasional. Sementara itu daging buah pala dimanfaatkan menjadi berbagai macam produk pangan seperti manisan pala, sari buah selai pala, dan jeli (Hadad & Firman, 2006). Pengungkapan potensinya sebagai sumber antioksidan kemungkinan berkaitan dengan senyawa kimia yang dikandungnya dan metode

ekstraksi untuk memperoleh senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan tersebut.

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak *Callyspongia sp.* dengan metode tiosianat telah dilakukan (Amrun H. dkk,2007). Pada metode tiosianat ini pengukuran aktivitas antioksidan didasarkan pada daya penghambatan terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif.

Uji aktivitas anti radikal bebas DPPH terhadap ekstrak metanol dan air buah kenitu yang tumbuh di daerah Jember telah dilakukan dan diketahui kedua ekstrak tersebut memiliki aktivitas anti radikal bebas DPPH (Hidayat dan Umiyah, 2005).

Sebagai salah satu upaya untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam hayati Indonesia, dilakukan penelitian dengan tujuan awal menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala. Selain itu dilakukan juga identifikasi kandungan kimia yang berkhasiat sebagai antioksidan dalam buah pala yang diperoleh dari Perkebunan PT PN IX Ungaran.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang timbul dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Apakah lama waktu maserasi (perendaman) berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak buah pala ?
- 2. Apakah volume pelarut (perendam) ekstrak buah pala berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak ?

- 3. Seberapa besar aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala yang dinyatakan dengan IC_{50} ?
- 4. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala?
- 5. Kandungan kimia apakah dalam ekstrak buah pala yang mempunyai aktivitas antioksidan ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala dengan metode DPPH.
- 2. Mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala dengan variasi lama waktu perendaman dan volume perendam yang dinyatakan dengan IC_{50} .
- Mengetahui kandungan kimia dalam ekstrak buah pala yang mempunyai aktivitas antioksidan.

PERPUSTAKAAN

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Membuktikan adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak buah pala.
- 2. Hasil penelitian dapat memberikan data ilmiah tentang IC_{50} dan kandungan kimia pada ekstrak buah pala.

- 3. Sebagai referensi bagi penelitian sejenis tentang pemanfaatan buah pala sebagai sumber antioksidan.
- 4. Sebagai sumber informasi bagi masyarakat mengenai sumber antioksidan dari tanaman obat tradisional sebagai obat alternatif (antioksidan luar) untuk mengendalikan dan mencegah terjadinya berbagai penyakit degeneratif, kanker dan penyakit lain.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pala

Pala (*Myristica fragrans*) merupakan tumbuhan berupa pohon yang berasal dari Kepulauan Banda, Maluku. Karena nilai ekonomisnya yang tinggi sebagai rempah-rempah, buah dan biji pala telah menjadi komoditi perdagangan yang penting sejak masa Romawi. Semenjak zaman eksplorasi Eropa pala tersebar luas di daerah tropika lain seperti Mauritius dan Karibia (Pulau Grenada). Istilah pala juga dipakai untuk biji pala yang diperdagangkan.



Gambar 2.1. Buah pala

Klasifikasi ilmiah tanaman pala adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Magnoliopsida

Famili : Myristicaceae

Genus : Myristica

Spesies : M. fragrans

Nama binomial : *Myristica fragrans*

Tanaman pala mempunyai nama spesies : Myristica Fragrans Houtt, nama inggris: Nutmeg, dan nama Indonesia: Pala

Tumbuhan ini berumah dua (*dioecious*) sehingga dikenal pohon jantan dan pohon betina. Daunnya berbentuk elips langsing, buahnya berbentuk lonjong seperti lemon, berwarna kuning, berdaging dan beraroma khas karena mengandung minyak atsiri pada daging buahnya. Bila masak, kulit dan daging buah membuka dan biji akan terlihat terbungkus fuli yang berwarna merah.

Tanaman pala mulai berbuah pada umur 7 – 8 tahun dan pada umur 10 tahun dapat berproduksi secara menguntungkan. Produksi tanaman pala terus meningkat dan pada umur 25 tahun mencapai produksi tertinggi dan dapat terus berproduksi sampai umur 60-70 tahun. Tumbuhan ini berupa pohon yang tingginya sampai + 20 m dan bercabang banyak. Tajuk pohon seperti kerucut. Daun letaknya berseling, bentuk helaian daun bundar telur atau lonjong sampai lanset dan kalau diremas berbau harum. Perbungaan tersusun membentuk payung menggarpu. Buahnya buah batu, berdaun kuning muda kehijauan, bentuk bulat lonjong dan beralur memanjang ditengahnya. Biji dibalut aril yang melekat dibagian pangkal biji. Biji berwarna coklat tua, berpola dan berbentuk bulat telur. Daging buah, biji dan arilnya berbau harum (Hadad & Firman, 2006).

Tempat asal tumbuhan ini adalah beberapa pulau kecil di Maluku dan Pulau Banda sebagai pusatnya. Tetapi, sekarang ini tumbuhan pala sudah tersebar di seluruh Indonesia.

2.2 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990) Menurut Cuppert (1997) disitir Widjaya (2003), antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi.

Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Berbagai kerusakan seperti ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain pada produk pangan karena oksidasi dapat dihambat oleh antioksidan.

Antioksidan sangat beragam jenisnya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami)

2.2.1. Antioksidan Sintetik

Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan untuk makanan adalah Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat, Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Buck, 1991)

BHA memiliki kemampuan antioksidan (*carry through*, kemampuan antioksidan baik dilihat dari ketahanannya terhadap tahap-tahap pengelolaan maupun stabilitasnya pada produk akhir) yang baik pada lemak hewan dalam sistem makanan panggang, namun relatif tidak efektif pada minyak tanaman. BHA bersifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk padat putih dan dijual dalam bentuk tablet atau serpih, bersifat volatil sehingga berguna untuk penambahan ke materi pengemas (Buck, 1991; Coppen, 1983).

Menurut Sherwin (1990), antioksidan sintetik BHT memiliki sifat serupa BHA, akan memberi efek sinergis bila dimanfaatkan bersama BHA, berbentuk kristal padat putih dan digunakan secara luas karena relatif murah. Propil galat mempunyai karakteristik sensitif terhadap panas, terdekomposisi pada titik cairnya 148 °C, dapat membentuk komplek warna dengan ion metal, sehingga kemampuan antioksidannya rendah. Selain itu, propil galat memiliki sifat berbentuk kristal padat putih, sedikit tidak larut lemak tetapi larut air, serta memberi efek sinergis dengan BHA dan BHT (Buck, 1991).

TBHQ dikenal sebagai antioksidan paling efektif untuk lemak dan minyak, khususnya minyak tanaman karena memiliki kemampuan

antioksidan yang baik pada penggorengan tetapi rendah pada pembakaran. Bila TBHQ direkomendasikan dengan BHA yang memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada pemanggangan akan memberikan kegunaan yang lebih luas. TBHQ dikenal berbentuk bubuk putih sampai coklat terang, mempunyai kelarutan cukup pada lemak dan minyak, tidak membentuk kompleks warna dengan Fe dan Cu tetapi dapat berubah warna menjadi merah muda dengan adanya basa (Buck, 1991).

Tokoferol merupakan antioksidan alami yang dapat ditemukan hampir disetiap minyak tanaman, tetapi saat ini telah dapat diproduksi secara kimia. Tokoferol memiliki karakteristik berwarna kuning terang, cukup larut dalam lipida karena rantai C panjang. Pengaruh nutrisi secara lengkap dari tokoferol belum diketahui, tetapi α -tokoferol dikenal sebagai sumber vitamin E. Didalam jaringan hidup, aktivitas antioksidan tokoferol cenderung α -> β -> γ -> δ -tokoferol, tetapi dalam makanan aktivitas tokoferol terbalik δ -> γ -> β -> α -tokoferol (Belitz dan Grosch, 1987). Menurut Sherwin (1990), urutan tersebut kadang bervariasi tergantung pada substrat dan kondisi-kondisi lain seperti suhu. **ERPUSTAKAAN**

2.2.2. Antioksidan Alami

Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt,1992).

Tabel 2.1. Contoh antioksidan untuk produk pangan di beberapa negara*

Amerika Serikat	Kanada	EEC**
Senyawa fenolik		
Butil Hidroksi Anisol (BHA)	BHA	BHA
Butil Hidroksi Toluen (BHT)	BHT	BHT
Ter Butil Hidroksi Quinon (TBHQ)	Propil galat	Propil galat
Trihidroksibutiropenon	Tokoferol	Dodesil galat
Propil galat		Oktil galat
Tokoferol		Tokoferol
4-hidroksimetil-2,6-ditertier butilfenol		
Asam dan ester		
Diauril tiopropionat	Asam askorbat	Asam askorbat
Asam tiodipropionat	Askorbil palmitat	Askorbil palmitat
	Askorbil stearat	Kasium askorbat
	Asam sitrat	Sodium askorbat
	Lesitin sitrat	
	Monogliserida sitrat	
	Monoisopropil sitrat	
	Asam tartarat	
Lain-lain		
Glisin	Gum guaiac	
Gum guaiac	Lesistin	
Lecithin		
*Buck (1991)		
**European Economic Community		

Sedangkan pada tabel 2 dapat dilihat penggolongan penghambat seluler oksidasi lemak.

Tabel 2.2. Inhibitor seluler oksidasi lemak

Two vi =;=: illino ivoi bviwivi onbiwwoi iviiwii			
Inhibitor yang larut dalam air	Inhibitor yang larut lemak		
Superoksida disimutase	Tokoferol		
Peroksidase, contoh glutation	Karotenoid		
perokidase			
Khelat dari besi			
Agen pereduksi contoh askorbat			
Hidroksi			
Ferroksidase			
Fospolipase, protease			
Katalase	Ubiquinal		
-	·		

Sumber Hultin (1994)

Menurut Pratt dan Hudson (1990), kebanyakan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah berasal dari tumbuhan.

Kingdom tumbuhan, Angiosperm memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari (Pratt, 1992).

Menurut Pratt dan Hudson (1990) serta Shahidi dan Naczk (1950, senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organic polifungsional. Ditambahkan oleh Pratt (1992), 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 alami polifenolik ini adalah multifungsional dan dapat beraksi sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, (d) peredam terbentuknya singlet oksigen.

Selain flavonoid, yang termasuk senyawa antioksidan dapat pula steroid, terpenoid, alkaloid dan antraquinon. Menurut Markham (1988), kira-kira 2 % dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan erat dengannya, sehingga flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar.

Lebih lanjut disebutkan bahwa sebenarnya flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, sehingga pastilah ditemukan pula pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Ditulis oleh Pratt dan Hudson (1990) kebanyakan dari golongan flavonoid dan senyawa yang berkaitan erat dengannya memiliki sifat-sifat antioksidan baik didalam lipida cair maupun dalam makanan berlipida.

Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, seperti rempah-rempah, dedaunan, teh, kokoa, biji-bijian, serealia, buah-buahan, sayur-sayuran dan tumbuhan/alga laut. Bahan pangan ini mengandung jenis senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, seperti asam-asam amino, asam askorbat, golongan flavonoid, tokoferol, karotenoid, tannin, peptida, melanoidin, produk-produk reduksi, dan asam-asam organik lain (Pratt,1992).

Tumbuhan rempah-rempah sudah sejak lama dikenal kegunaannya untuk manusia, misalnya untuk memberi aroma, rasa pada makanan, untuk obat-obatan, atau memiliki sifat antiseptik. Nakatani (1992) telah merangkum hasil penelitian dari beberapa peneliti dunia dan menyebutkan bahwa tumbuhan rosemary dan sage memiliki antioksidan efektif untuk memperlambat kerusakan oksidatif pada lemak babi, begitu pula antioksidan dari tumbuhan thyme, oregano, pala, bunga pala dan kunyit. Sementara cengkeh memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi di dalam emulsi minyak dalam air dibanding kunyit, bunga pala, rosemary,

pala, jahe, oregano, dan sage. Tumbuhan laut yang diketahui mempunyai senyawa antioksidan adalah *Gelidiopsis* sp.

2.3 Sifat-sifat Antioksidan

Secara umum, menurut Coppen (1983), antioksidan diharapkan memiliki ciri-ciri sebagai berikut (a) aman dalam penggunaan, (b) tidak memberi flavor, odor, warna pada produk, (c) efektif pada konsentrasi rendah, (d) tahan terhadap proses pengolahan produk (berkemampuan antioksidan yang baik), (e) tersedia dengan harga yang murah. Ciri keempat merupakan hal yang sangat penting karena sebagian proses pengolahan menggunakan suhu tinggi. Suhu tinggi akan merusak lipida dan stabilitas antioksidan yang ditambahkan sebagai bahan tambahan pangan. Kemampuan bertahan antioksidan terhadap proses pengolahan sangat diperlukan untuk dapat melindungi produk akhir.

Sebagaimana suatu benda pada umumnya, antioksidan juga memiliki keterbatasan-keterbatasan. Keterbatasan tersebut meliputi (a) antioksidan tidak dapat memperbaiki flavor lipida yang berkualitas rendah, (b) antioksidan tidak dapat memperbaiki lipida yang sudah tengik, (c) antioksidan tidak dapat mencegah kerusakan hidrolisis, maupun kerusakan mikroba (Coppen, 1983).

2.4 Mekanisme Kerja Antioksidan

Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering

disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R*, ROO*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990).

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (persamaan 2.1 dan 2.2). Radikal-radikal antioksidan (A*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990). Menurut Hamilton (1983), radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal.

Inisiasi ;
$$R^*$$
 + AH ------- RH + A^* (2.1)
Radikal lipida **ERPUSTAKAAN**

Propagasi :
$$ROO^* + AH$$
 ------ ROOH + A^* (2.2)

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Persamaan 2.4). Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji.

$$AH + O_2 ---- A^* + HOO^*$$
 (2.3)

$$AH + ROOH - RO^* + H_2O + A^*$$
 (2.4)

2.5 Vitamin C

Vitamin C bukanlah satu-satunya vitamin anti oksidan (youngson,2005). Angka mulai dari 45 sampai 75 mg/hari dicantumkan sebagai kebutuhan harian. Vitamin C tersebar luas di alam, kebanyakan dalam produk tumbuhan seperti buah, terutama buah jeruk, sayur hijau, tomat, kentang, dan buah beri (Padmawinata dan Kokasih, 1997).

Gambar 2.2. Struktur Kimia Vitamin C (Anonim, 2008)

Dosis vitamin C harian dalam jumlah melebihi persyaratan minimal untuk mencegah kekurangan vitamin C, akan menghasilkan peningkatan perasaan sejahtera dan khususnya menurunkan frekuensi terkena batuk pilek serta tingkat keparahannya. Sebagian besar percobaan mengenai metode ini menunjukan bahwa tidak satu pun peserta percobaan yang mendapat dosis vitamin C cukup besar. Malah pada faktanya, mereka mendapat dosis vitamin C yang lebih kecil dari pada batas minimal untuk mencegah kekurangan vitamin C (Youngson, 2005).

Vitamin C adalah kristal putih yang mudah larut dalam air. Dalam keadaan kering vitamin C cukup stabil, tetapi dalam keadaan larut, vitamin C mudah rusak karena bersentuhan dengan udara (oksidasi) terutama bila terkena panas. Oksidasi dipercepat dengan kehadiran tembaga dan besi. Vitamin C tidak stabil dalam larutan alkali, tetapi cukup stabil dalam larutan asam. Vitamin C adalah vitamin yang paling labil (Almatsier, 2003). Vitamin C sedikit larut dalam alkohol (Andarwulan dan Koswara, 1992).

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai metode. Beberapa metode uji aktivitas antioksidan adalah metode tiosianat, penentuan nilai peroksida, metode DPPH dan lain sebagainya. Pada metode tiosianat pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan daya penghambatan terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif (Hanani dkk, 2007). Metode penentuan nilai peroksida suatu ekstrak tumbuhan menunjukkan kemampuan ekstrak untuk menghambat laju oksidasi lemak, kemampuan suatu ekstrak untuk menghambat laju oksidasi yang diindikasikan dengan nilai peroksida suatu ekstrak kemungkinan dapat dimanfaatkan sebagai suatu bahan yang dapat bersifat antioksidan.

Metode DPPH merupakan metode yang relatif sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Blois, 1958).

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) menghasilkan radikal bebas aktif bila dilarutkan dalam alkohol, radikal bebas tersebut stabil dengan absorbsi maksimum pada panjang gelombang 517 nm dan dapat direduksi oleh senyawa anti oksidan (Praptiwi dkk,2006).

DPPH terdiri dari sebuah radikal bebas dalam suatu molekul dan dikombinasi dengan radikal bebas lain dalam bentuk kompleks yang stabil (Roth dan Blaschhhe, 1994).

DPPH merupakan radikal hidrazil yang stabil, berwarna ungu, tidak ada kecenderungan untuk membentuk dimer dalam keadaan padat atau dalam larutan meskipun dalam suhu rendah (Forrester dkk, 1968).

Gambar 2.3. Struktur Kimia DPPH (Forrester dkk, 1968)

Setiap larutan dalam konsentrasi 10⁻⁵ M yang berwarna dapat digunakan sebagai indikator untuk mendeteksi persentase dari radikal seperti halnya pada indikator asam basa dalam titrasi (Pryor, 1966). Besarnya aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan nilai IC₅₀, (Half maximal inhibition concentration) yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Masing-masing konsentrasi sampel dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier(Regina dkk, 2003).

2.7 Spektrofotometri Sinar Tampak

Spektrofotometri Sinar Tampak adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Mulja dan Suherman, 1995).

Spektrofotometri sinar tampak dapat melakukan penentuan terhadap

sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis. Kemurniannya harus tinggi atau derajat untuk analisis (Mulja dan Suherman, 1995).

Pada umumnya pelarut yang sering dipakai dalam analisis spektrofotometri sinar tampak adalah air, etanol, sikloheksan, dan isopropanol. Hal lain yang perlu diperhatikan dalam masalah pemilihan pelarut adalah polaritas pelarut yang dipakai, karena akan sangat berpengaruh terhadap pergeseran spektrum molekul yang dianalisis (Mulja dan Suherman, 1995).

Pada pengukuran serapan suatu larutan hampir selalu menggunakan blangko yang digunakan untuk mengatur spektrofotometer hingga pada panjang gelombang pengukuran mempunyai serapan nol. Maksud dari blangko tersebut adalah untuk koreksi serapan yang disebabkan oleh pelarut, pereaksi, sel ataupun pengaturan alat. Blanko dapat berupa blanko pelarut yaitu pelarut yang sama

seperti yang digunakan untuk melarutkan zat atau blanko pereaksi yaitu pereaksi yang sama seperti yang digunakan untuk menyiapkan larutan zat (Anonim, 1979).

Prinsip analisis dengan metode spektrofotometri adalah penyerapan sinar dari larutan berwarna setelah larutan cuplikan dilalui sinar. Absorpsi maksimum dari larutan berwarna terjadi pada daerah warna yang berlawanan dengan kata lain warna yang diserap adalah warna komplementer dari warna yang diamati.

Tabel 2.3. Spektrum Sinar Tampak dan Warna Komplementer

Panjang Gelombang (nm)	Warna yang diserap	Warna yang diamati
400-430	Ungu	Kuning Kehijauan
430-480	Biru	Kuning
480-490	Biru Kehijauan	Oranye
490-500	Hijau Kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Merah Keunguan
560-580	Kuning Kehijauan	Ungu
580-590	Kuning	Biru
590-610	Oranye	Biru Kehijauan
610-720	Merah	Hijau Kebiruan
(II 1 1 1 D	1000	

(Underwood dan Day, 1989)

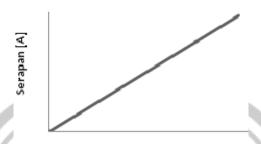
Analisis kuantitatif dengan spektrofotometri didasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi, yang secara matematis dapat dituliskan sebagai berikut.

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \text{ atau}$$
 (2. 1)

$$A = a \cdot b \cdot c$$
 (2.2)

A= absorbansi, $\epsilon=$ koefisien Ekstingsi molar, a= koefisien Absorbtivitas, b= tebal medium penyerap, dan c= konsentrasi

Jika suatu sistem mengikuti hukum Lambert-Beer, grafik hubungan antara serapan terhadap kadar suatu analit dapat menghasilkan garis lurus melalui titik (0,0) seperti nampak pada Gambar 6 (Khopkar, 1990).



Gambar 2.4. Grafik hubungan antara serapan dan kadar suatu analit

Kadar

Hukum lambert-Beer hanya berlaku jika sinar yang digunakan adalah sinar monokromatis, larutan sampel blanko adalah encer, dan khusus untuk spektroskopi sinar tampak maka larutan sampel harus berwarna atau dapat diubah menjadi senyawa lain yang berwarna secara kuantitatif.

Penggunaan kurva yang tepat adalah pada kurva yang linear. Hal-hal yang mempengaruhi linearitas kurva adalah adanya disosiasi zat pada pengenceran dan terjadinya polimerisasi. Instrumen yang digunakan untuk mempelajari absorpsi maupun emisi radiasi elektromagnetik sebagai fungsi gelombang disebut spektrofotometer.

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 oleh sampel atau blanko ataupun pembanding.

Bagian-bagian spektrofotometer:

- Sumber radiasi: Sumber radiasi yang biasa digunakan pada spektroskopi absorbsi sinar tampak adalah lampu wolfram.
- Monokromator: digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis (terdiri dari prisma dan grating)
- 3) Detektor: untuk mendeteksi sinar yang ditransmisikan atau diabsorpsi oleh sampel atau blanko.
- 4) Sel absorpsi: digunakan kuvet kaca/ kuarsa sebagai tempat sampel atau blanko (Prasetya, 2000).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

- 1. Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Negeri Semarang untuk maserasi, pembuatan larutan berbagai variasi konsentrasi, pengujian aktivitas antioksidan dan pengujian kandungan kimia ekstrak.
- 2. Laboratorium Kimia Instrumen FMIPA untuk menentukan besarnya aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer UV-Vis.

3.2 Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian adalah bagian dari daging buah pala (*Myristica fragrans Houtt*) yang diperoleh dari perkebunan pala PT PN IX di daerah Ungaran.

PERPUSTAKAAN

3.3 Variabel

3.3.1 Variabel bebas (Independent Variable)

Independent variable adalah variabel yang dapat dilihat pengaruhnya terhadap variabel lain. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Variasi volume perendam (150 ml dan 300 ml etanol) dan lama perendaman 4 jam, 6 jam dan 8 jam dengan konsentrasi dari ekstrak etanol (2%, 4%, 6%, 8%) dan ekstrak air buah pala (2%, 4%, 6%, 8%).

3.2.2 Variabel terikat (Dependent Variable)

Dependent Variable adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas, Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan buah pala.

3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dapat mempengaruhi hasil reaksi, akan tetapi dijaga agar tetap konstan. Variabel yang dikendalikan dalam penelitian ini meliputi suhu ruang, bagian buah, jenis buah yang digunakan dalam penelitian dan intensitas sinar UV.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Parutan, Gelas ukur, Tabung Reaksi, Plastik pembungkus, Botol Reagen, Beker gelas, Pipet ukur, Labu takar, Pipet tetes, Termometer, *Stop Watch*, Timbang elektrik, Pipa kapiler, Mikro pipet, Tabung reaksi, Spektrofotometer UV-Visibel, tabung reaksi, 1 set pembakar spiritus.

PERPUSTAKAAN

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Buah pala, Vitamin C, Biru metilen P, HCL pekat, Radikal bebas DPPH (Sigma), Etanol 99% (p.a), Etanol 70% (E. Merck), Aquadest, H₂SO₄, NaOH, biru metilen, pereaksi Dragendorff atau Mayer, serbuk seng atau magnesium, benzena, aquadest steril.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pembuatan ekstrak buah pala

3.4.1.1 Pembuatan ekstrak etanol buah pala

Variasi A:

A1: Ditimbang 0,100 kg daging buah pala segar, dipotong tipis-tipis dimaserasi dengan etanol 150 ml selama 4 jam, goyangkan (*shaker*) 30 menit, lalu disaring, kemudian diambil 50 ml dievaporasi lalu dibuat variasi konsentrasinya sebanyak 2,5 ml ekstrak etanol diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10%. Dari konsentrasi ekstrak etanol 10% tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 2%, 4%, 6%, 8% v/v untuk uji aktivitas antioksidan.

A2 : Ditimbang 0,100 kg daging buah pala segar, dipotong tipis-tipis dimaserasi dengan etanol 150 ml selama 6 jam, goyangkan (*shaker*) 30 menit, lalu disaring, kemudian diambil 50 ml dievaporasi lalu dibuat variasi konsentrasinya sebanyak 2,5 ml ekstrak etanol diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10%. Dari konsentrasi ekstrak etanol 10% tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 2%, 4%, 6%, 8% v/v untuk uji aktivitas antioksidan.

A3: Ditimbang 0,100 kg daging buah pala segar, dipotong tipis-tipis dimaserasi dengan etanol 150 ml selama 8 jam, goyangkan (*shaker*) 30 menit, lalu disaring, kemudian diambil 50 ml dievaporasi lalu dibuat variasi konsentrasinya sebanyak 2,5 ml ekstrak etanol diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak

10%. Dari konsentrasi ekstrak etanol 10% tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 2%, 4%, 6%, 8% v/v untuk uji aktivitas antioksidan.

Variasi B:

- **B1**: Ditimbang 0,100 kg daging buah pala segar, dipotong tipis-tipis dimaserasi dengan etanol 300 ml selama 4 jam goyangkan (*shaker*) 30 menit, lalu disaring, kemudian diambil 50 ml dievaporasi lalu dibuat variasi konsentrasinya sebanyak 2,5 ml ekstrak etanol diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10%. Dari konsentrasi ekstrak etanol 10% tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 2%, 4%, 6%, 8% v/v untuk uji aktivitas antioksidan.
- **B2**: Ditimbang 0,100 kg daging buah pala segar, dipotong tipis-tipis dimaserasi dengan etanol 300 ml selama 6 jam, goyangkan (*shaker*) 30 menit, lalu disaring, kemudian diambil 50 ml dievaporasi lalu dibuat variasi konsentrasinya sebanyak 2,5 ml ekstrak etanol diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10%. Dari konsentrasi ekstrak etanol 10% tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 2%, 4%, 6%, 8% v/v untuk uji aktivitas antioksidan.
- **B3**: Ditimbang 0,100 kg daging buah pala segar, dipotong tipis-tipis dimaserasi dengan etanol 300 ml selama 8 jam, goyangkan (*shaker*) 30 menit, lalu disaring, kemudian diambil 50 ml dievaporasi lalu dibuat variasi konsentrasinya sebanyak 2,5 ml ekstrak etanol diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10%. Dari konsentrasi ekstrak etanol 10% tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 2%, 4%, 6%, 8% v/v untuk uji aktivitas antioksidan.

3.4.1.2 Pembuatan ekstrak air buah pala

Buah pala yang sudah matang dipotong/diparut kemudian diperas, dan air perasannya ditampung dalam wadah. Sebanyak 2,5 ml perasan kemudian diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi perasan 10%. Dari konsentrasi perasan 10% tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi sebesar 2%, 4%, 6%, 8% untuk uji aktivitas antioksidan.

3.4.2 Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH

3.4.2.1 Pembuatan Larutan Uji

3.4.2.1.1 Ekstrak etanol & ekstrak air Myristica fragrans

Ekstrak *Myristica fragrans*. Dilarutkan dalam pelarutnya dan dibuat dalam berbagai konsentrasi (2%, 4%, 6%, 8%). Masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

3.4.2.1.2 Baku Pembanding Vitamin C

Sebagai pembanding digunakan vitamin C Seri kadar vitamin C dibuat dengan cara sebanyak 0,25 gram vitamin C, kemudian diencerkan dengan menambahkan air sampai 25 ml, sehingga diperoleh kadar 1%. Dari kadar 1% tersebut dibuat seri konsentrasi sebesar 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%

3.4.2.2 Pembuatan DPPH

Ditimbang 4 mg DPPH kristal dan dilarutkan dalam etanol p.a. tepat pada konsentrasi 0,004% b/v untuk segera digunakan dan dijaga pada suhu rendah serta terlindung cahaya.

3.4.2.3 Penentuan panjang gelombang maksimum (λ max) larutan DPPH 0,004%

Pengujian aktivitas antioksidan buah Pala maupun larutan vitamin C diawali dengan melakukan penentuan panjang gelombang (λ max) larutan DPPH 0,004% yang akan digunakan dalam setiap pengujian. Penentuan dilakukan dengan mencampurkan 300 μ l etanol 70% dengan larutan DPPH 0,004% 3,0 ml untuk mendapatkan absorbansi \pm 0,2-0,8 yang diukur pada panjang gelombang 400-600 nm (Nugraheni, 2007).

3.4.2.4 Penentuan Operating time

Diambil salah satu konsentrasi uji misal pembanding vitamin C untuk dilakukan penentuan *operating time. Operating time* dilakukan dengan cara 300 μl vitamin C ditambah 3,0 ml DPPH 0,004%. Larutan uji selanjutnya dihomogenkan dengan stirer selama 30 detik. Larutan uji tersebut diukur pada menit ke 15, 30, 45 pada λ max yang sudah diperoleh.

3.4.2.5 Pengujian Anti Radikal Bebas DPPH

Pengujian antiradikal bebas DPPH (Santosa *et al.*, 1998; Dyatmiko dan Santosa, 1998) dilakukan sebagai berikut:

3.4.2.5.1 Pengujian Anti Radikal Bebas DPPH blanko

Dipipet 300 µl pelarut (etanol, air) ke dalam kuvet dan ditambahkan larutan DPPH 3 ml dan diaduk rata dengan pipet. Campuran selanjutnya dibiarkan selama *operating time* yang telah ditentukan. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang telah ditentukan pula.

3.4.2.5.2 Pengujian Anti Radikal Bebas Ekstrak Etanol & Ekstrak Air *Myristica fragrans*

Untuk pengukuran antiradikal bebas bahan uji digunakan metode yang sama, dipipet 300 µl larutan uji (ekstrak etanol, ekstrak air). ke dalam kuvet dan ditambahkan larutan DPPH 3 ml dan diaduk rata dengan pipet. Campuran selanjutnya dibiarkan selama *operating time*. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang telah ditentukan.

3.4.2.5.3 Pengujian Anti Radikal Bebas Baku Pembanding Vitamin C

Dipipet 300 µl larutan Baku Pembanding Vitamin C. ke dalam kuvet dan ditambahkan larutan DPPH 3 ml dan diaduk rata dengan pipet. Campuran selanjutnya dibiarkan selama *operating time*. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang telah ditentukan.

3.4.2.6 Penentuan Persentase Aktivitas Antioksidan dan Nilai IC₅₀

Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus :

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{\text{Abs kontrol-Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$
 (3.1)

Keterangan:

Abs Kontrol = absorbansi DPPH

Abs _{sampel} = absorbansi ekstrak buah pala

(Mursyidi, 1985).

Nilai IC_{50} masing-masing dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi . IC_{50} adalah konsentrasi yang diperlukan untuk

meredam aktivitas radikal bebas sampai 50%. Semakin kecil IC₅₀ berarti semakin besar aktivitas antioksidannya.

3.4.2.7 Pemeriksaan kandungan kimia

3.4.2.7.1 Identifikasi vitamin C pada buah pala

1 ml sampel ekstrak buah pala ditambah dengan 4 ml asam klorida 0,1 N dan 4 tetes larutan biru metilen P, hangatkan hingga suhu 40°C, warna biru tua yang terjadi berubah menjadi biru muda atau hilang sempurna dalam waktu 3 menit, positif adanya vitamin C (Anonim, 1979).

3.4.2.7.2 Identifikasi Alkaloid

Larutan ekstrak sebanyak 3 ml ditambah dengan 1 ml HCl 2 N, dan 6 ml air suling, kemudian panaskan selama 2 menit, dinginkan kemudian disaring. Filtrat diperiksa adanya senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorf dan Mayer.

3.4.2.7.3 Identifikasi Flavonoid

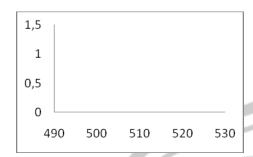
Larutan ekstrak sebanyak 2 ml ditambah dengan sedikit serbuk magnesium dan 2 ml HCl 2 N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah.

3.4.2.7.4 Identifikasi Antrakuinon

Larutan ekstrak sebanyak 2 ml dipanaskan dengan 5 ml H₂SO₄ selama 1 menit. Setelah dingin dikocok dengan 10 ml benzena. Warna kuning pada lapisan benzena menunjukkan adanya senyawa antrakuinon. Identifikasi dapat diperjelas dengan menambahkan larutan natrium hidroksida 2N, akan terjadi warna merah pada lapisan air.

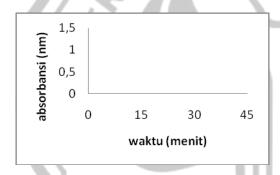
3.5 Analisis Data

3.5.1 Penentuan Panjang Gelombang maksimal (\(\lambda\) max)



Grafik 1. Absorbansi vs Panjang Gelombang (nm) Panjang gelombang maksimal : nm

3.5.2 Penentuan Operating Time (pada λ max)



Grafik 2. Penentuan Operating Time

3.5.3. Uji Aktivitas Antioksidan (Tabel Hasil Absorbansi)

	Konsentrasi		abso	rbansi		Konsentrasi		abso	rbansi
Sampel	(%v/v)		(nm)	Rata-rata(nm)	Sampel	(% v/v)		(nm)	Rata-rata(nm)
		I			Ц	0	I		
	2	II				2	II		
al-atual-		Ш			ekstrak		III		
ekstrak etanol		I			etanol		I		
buah	4	II			buah	4	II		
pala A1		Ш			pala		Ш		
(150		I			B1		I		
ml,	6	II			(300	6	II		
4 jam)		Ш			ml,		Ш		
· juiii)		I			4 jam)		I		
	8	II				8	II		
		Ш					Ш		
ekstrak		I			ekstrak		I		
etanol	2	II			etanol	2	II		
buah		Ш			buah		Ш		
pala	4	I			pala	4	I		

1	i	1 1	1	ı	1
A2		II	B2		П
(150		III	(300		III
ml,		I	ml,		I
6 jam)	6	II	6 jam)	6	II
		III			III
		I			I
	8	II		8	II
		III			III
		I			I
	2	II		2	II
ekstrak		III	ekstrak		III
etanol		I	etanol		I
buah	4	II	buah	4	II
pala		III	pala		III
A3		I	В3		I
(150	6	П	(300	6	П
ml,			ml,		Ш
8 jam)		L	8 jam)	K/	I
	8	П		8	II
		Ш		02	Ш
		I		/ /	L
	2	II	1	2	TI .
		III	1		III
		I	//		I
ekstrak	4	II		4	II S
air		III	Vite		III
buah		I	Vit C		I
pala	6	П		6	п
		III			III Z
		1	7.4		1
	8	П		8	п С
		III			m
	-				

3.5.4 Data Persentase Aktivitas Antioksidan (% aktivitas antioksidan) dan IC_{50} Karakteristik ini dilakukan menggunakan metode spektrofotometri Vis. Hasil analisis ditabulasikan pada tabel

Sampel	Konsentrasi (%v/v)	Aktivitas Antioksidan (%)	IC ₅₀
	2	5	
ekstrak etanol buah pala	4		
A1 (150 ml,4 jam)	6		
	8		
	2		
ekstrak etanol buah pala	4		
A2 (150 ml,6 jam)	6		
	8		
ekstrak etanol buah pala	2		
A3 (150 ml,8 jam)	4		

		-	
	6		
	8		
	2		
ekstrak etanol buah pala	4		'
B1 (300 ml,4 jam)	6		'
	8		'
	2		
ekstrak etanol buah pala	4		'
B2 (300 ml,6 jam)	6		'
	8		'
	2 6 5	_	
ekstrak etanol buah pala	5 4	K/	
B3 (300 ml,8 jam)	6	0.7	
1/6	8		
0-1	2		
okatrak air buah pala	4		
ekstrak air buah pala	6	7	- /
	8	I V	- 1.11
	2		
Vit C	4		
VII C	6		'
\\	8		

3.5.5 Pemeriksaan Kandungan Kimia

No	Golongan	Pereaksi	Hasil
1	Vitamin C	Biru metilen	
2	Alkaloid	Dragendorf	
		Mayer	
3	Flavonoid	Mg/ HCl	
4	Antrakinon	Benzena-NaOH	

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

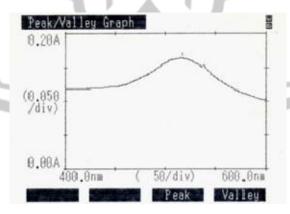
4.1 Pembuatan Ekstrak Buah Pala

Penelitian tentang "Uji Aktivitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah (Myristica Fragan Houtt) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2pikrilhidrazil)" dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA UNNES. Penelitian ini terdiri atas beberapa perlakuan yaitu variasi konsentrasi ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala dan variasi lama waktu perendaman yang berbeda-beda Buah Pala yang digunakan adalah buah pala dari perkebunan PT. PN IX afd. Gebugan Ungaran yang siap panen berwarna hijau kekuningan. Hal ini dimaksudkan untuk mendapat senyawa alkaloid yang optimum. Pembuatan ekstrak dikerjakan di tempat dengan suhu ruangan yang dingin. Hal ini dikerjakan untuk mengurangi kerusakan aktivitas antioksidannya, karena pada suhu yang tinggi dapat merusak kandungan antioksidan yang terdapat pada ekstrak. Pembuatan ekstrak juga dihindarkan dari kontak dengan sinar matahari langsung yang bertujuan agar komponen senyawa yang terdapat pada buah pala tidak rusak oleh sinar ultraviolet yang dipancarkan oleh sinar matahari. Buah pala dipotong tipis-tipis yang bertujuan untuk memperkecil ukuran bahan sehingga luas permukaan bahan semakin lebar. Dengan demikian, interaksi bahan dengan pelarut lebih mudah terjadi dan diperoleh ekstrak yang lebih banyak.

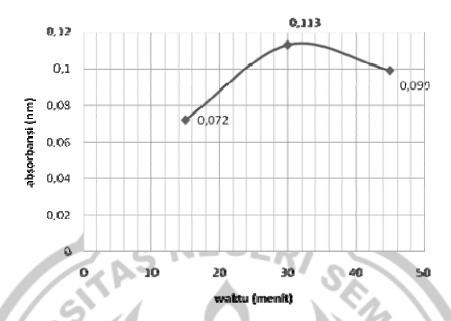
Penyiapan ekstrak untuk penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang berguna untuk mencegah rusaknya senyawa antioksidan yang terdapat di dalam buah pala. Pada proses maserasi dilakukan pengadukan dengan tujuan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar dan di dalam sampel buah pala. Selain itu juga akan mempercepat pengembangan sel yang mengandung zat aktif sehingga dengan mudah cairan penyari dapat melarutkan senyawa dalam rongga sel kemudian keluar melalui proses difusi yang disebabkan adanya perbedaan konsentrasi larutan di dalam rongga sel dan di luar sel.

4.2 Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan panjang gelombang maksimal (λ max) larutan DPPH 0,004% dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang antara 400-600 nm. Hasilnya, panjang gelombang maksimum (λ max) larutan DPPH 0,004% adalah 516 nm yang ditunjukan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Spektrum absorpsi larutan DPPH 0,004% pada panjang gelombang 400-600 nm



Gambar 4.2. Grafik Penentuan Operating Time

Penentuan *operating time* dilakukan pada menit ke 15, 30 dan 45 menit pengujian. Pada menit ke 15 diperoleh absorbansi sebesar 0,072; pada menit ke 30 diperoleh absorbansi sebesar 0,113; pada menit ke 30 absorbansi turun menjadi 0,099. Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu yang terbaik untuk berlangsungnya proses reaksi penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga akan dihasilkan DPPH-H (bentuk non radikal) dan menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna ungu dari DPPH (Windono dkk, 2004). Hal ini menunjukkan bahwa waktu pengujian dalam pembacaan absorbansi DPPH yang baik adalah pada menit ke 30, karena menunjukan serapan yang maksimal. Blanko DPPH yang dipergunakan adalah blanko dengan pelarut air dan dengan pelarut etanol. Absorbansi blanko ini akan digunakan untuk menghitung persen aktivitas

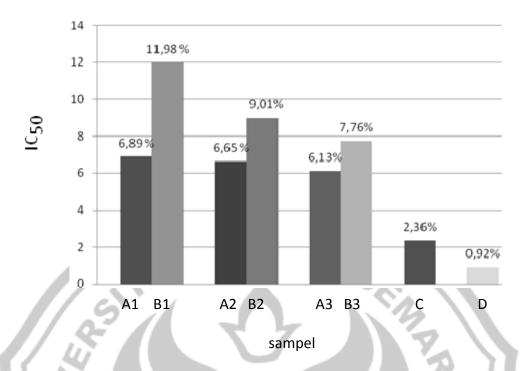
antioksidan, yang selanjutnya untuk menghitung IC₅₀. Absorbansi blanko dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Absorbansi Blanko Pelarut Etanol dan Blanko Pelarut Air

No.	Sampel	Absorbansi	k*abs
1	blanko pelarut air	0,158	0,1580
2	blanko pelarut etanol	0,158	0,1582

Aktivitas antioksidan diperoleh dari perhitungan dengan persamaan 3.1. Selanjutnya IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.3. IC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi efektif zat dalam ekstrak buah pala yang dapat memberikan nilai persen aktivitas antioksidan sebesar 50%. Nilai IC₅₀ yang paling kecil berarti potensi aktivitas antioksidannya yang paling besar karena pada konsentrasi kecil sudah mampu meredam radikal bebas sebesar 50%.

Vitamin C digunakan sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala. Hal ini karena sifat vitamin C mudah larut dalam air dan memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Vitamin C mudah berubah akibat oksidasi namun stabil jika merupakan kristal (murni), sehingga dalam penelitian ini digunakan vitamin C dalam bentuk kristal, yaitu kristal acidum ascorbicum.



Gambar 4.3. Grafik nilai IC₅₀ dari ekstrak buah pala dan vitamin C

Keterangan:

- A1 adalah ektrak etanol buah pala dengan perendam 150 ml Etanol dan lama perendaman 4 jam.
- A2 adalah ektrak etanol buah pala dengan perendam 150 ml Etanol dan lama perendaman 6 jam.
- A3 adalah ektrak etanol buah pala dengan perendam 150 ml Etanol dan lama perendaman 8 jam.
- B1 adalah ektrak etanol buah pala dengan perendam 300 ml Etanol dan lama perendaman 4 jam.
- B2 adalah ektrak etanol buah pala dengan perendam 300 ml Etanol dan lama perendaman 6 jam.
- B3 adalah ektrak etanol buah pala dengan perendam 300 ml Etanol dan lama perendaman 8 jam.
- C adalah ekstrak air buah pala
- D adalah Vitamin C sebagai baku pembanding dalam penelitian.

Gambar 4.3 menunjukan nilai IC₅₀ ekstrak etanol pada perendam 150 ml etanol p.a. dan lama perendaman 4, 6 dan 8 jam diperoleh nilai IC₅₀ berturut-turut 6,89%; 6,64% dan 6,13%. Semakin lama waktu perendaman nilai IC₅₀ semakin kecil. Ekstrak kode A3 dengan lama waktu maserasi 8 jam memiliki aktivitas

antioksidan terbaik. Nilai IC₅₀ dengan volume perendam 300 ml etanol p.a. dan lama perendaman 4, 6 dan 8 jam diperoleh nilai IC₅₀ berturut-turut 11,98%; 9,01% dan 7,76%. Semakin lama waktu perendaman nilai IC₅₀ semakin kecil. Ekstrak kode B3 dengan lama waktu maserasi 8 jam memiliki aktivitas antioksidan terbaik.

Pada ekstrak air buah pala diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 2,36% dan pada vitamin C sebesar 0,92%. IC₅₀ ekstrak air lebih kecil nilainya dibandingkan dengan ekstrak etanol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan ekstrak dengan menggunakan etanol, tetapi jika dibandingkan dengan vitamin C IC₅₀ nya sangat jauh berbeda. IC₅₀ vitamin C jauh lebih kecil nilainya dibanding dengan IC₅₀ ekstrak buah pala dengan menggunakan pelarut air maupun dengan pelarut etanol. Hal ini menunjukan bahwa ekstrak etanol maupun ekstrak air buah pala memiliki aktivitas antioksidan lebih kecil dibanding dengan vitamin C.

Hasil ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi , semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh artinya semakin besar aktivitas antioksidannya. Pada variasi volume perendaman, semakin banyak volume perendam, aktivitas antioksidan juga semakin kecil. Kedua hal ini dapat dijelaskan sebagai berikut semakin lama waktu maserasi, semakin banyak antioksidan yang terekstrak. Namun, semakin banyak volume perendam, konsentrasi antioksidan persatuan volume maserat yang terekstrak mengalami pengenceran, sehingga aktivitas antioksidannya berkurang.

Tabel 4.2. Data Persen Aktivitas Antioksidan dan IC_{50}

Sampel	Konsentrasi (%)	Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)	IC ₅₀	
	2	0,1063	32,700		
ekstrak etanol buah pala	4	0,0983	37,763	6,89 %	
A1 (150 ml,4 jam)	6	0,0823	47,890	0,89 %	
	8	0,0730	53,797		
	2	0,1060	32,911		
ekstrak etanol buah pala	4	0,0920	41,772	6 65 0/	
A2 (150 ml,6 jam)	6	0,0827	47,679	6,65 %	
	8	0,0720	54,430		
	2	0,1067	32,489		
ekstrak etanol buah pala	4	0,0933	41,772	6 12 0/	
A3 (150 ml,8 jam)	6	0,0817	47,679	6,13 %	
	8	0,0650	58,861		
	2	0,1150	27,215		
ekstrak etanol buah pala	4	0,1130	28,481	11,98 %	
B1 (300 ml,4 jam)	6	0,1037	34,388		
<	8	0,0923	41,561		
	2	0,1103	30,168	5	
ekstrak etanol buah pala	4	0,1110	29,746	9,01 %	
B2 (300 ml,6 jam)	6	0,0930	41,139		
	8	0,0827	47,679		
	2	0,1093	30,802		
ekstrak etanol buah pala	4	0,1020	35,443	7.76.0/	
B3 (300 ml,8 jam)	6	0,0897	43,249	7,76 %	
	PERISUST	0,0763	51,687		
	2	0,0963	39,029		
alratualr air buah mala	4	0,0377	76,160	2 26 0/	
ekstrak air buah pala	6	0,0297	81,223	2,36 %	
	8	0,0080	94,937		
	2	0,1163	26,371		
Vitamin C	4	0,1033	34,599	0,92 %	
v itallilli C	6	0,0973	38,397	0,94 /0	
	8	0,0837	47,046		

4.1.3 Pemeriksaan Kandungan Kimia

Buah Pala mengandung antara lain senyawa minyak atsiri (myristin, pinen, kamfen (zat membius), dipenten pinen safrol,eugenol), vitamin A, B1, C. (M. Hadad EA, dkk, 2006). Senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah vitamin C. Hasil uji kandungan kimia yaitu uji reaksi warna untuk mengidentifikasi adanya vitamin C, alkaloid, flavonoid, dan antrakinon dapat dilihat pada Tabel 4.3. Tujuan dilakukannya identifikasi kandungan kimia ini adalah untuk memastikan bahwa di dalam ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala terdapat senyawa yang mampu bekerja sebagai antioksidan. Hasil uji identifikasi kandungan vitamin C yaitu uji reaksi warna dengan penambahan HCl dan metilen blue yang kemudian dipanaskan pada suhu 40°C memberikan perubahan warna dari biru lama-lama menjadi pudar atau hilang. Uji terhadap vitamin C hasilnya positif artinya, ekstrak buah pala mengandung vitamin C yang memberikan aktivitas antioksidan. Reaksinya sebagai berikut:

(Sumber: Ismi, 2009)

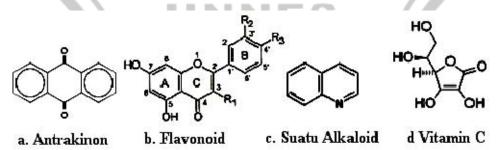
Pada hasil uji alkaloid dengan reagen Mayer dan reagen Dragendorff menunjukkan bahwa ekstrak buah pala mengandung alkaloid. Hal ini dapat diketahui dengan terbentuknya endapan putih. Reaksi yang terjadi antara suatu alkaloid dengan reagen Mayer dapat dilihat pada persamaan 4.2.dan dengan reagen Dragendorff dapat dilihat pada persamaan 4.3.

Menurut Wijayati, dkk (2009) selain Vitamin C senyawa yang diduga dapat berperan sebagai antioksidan adalah senyawa yang mempunyai gugus hidroksi fenolik di dalam strukturnya. Flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai

gugus hidroksi fenolik didalam strukturnya sehingga akan mampu mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas reaktif (molekul tidak stabil) menjadi senyawa yang radikal non reaktif (molekul yang lebih stabil).

Menurut Arrijani (2005) pada buah pala terdapat kandungan flavonoid tetapi pada uji reaksi warna pada flavonoid diperoleh hasil tidak terdeteksi adanya perubahan warna menjadi oranye (merah tua), hanya terbentuk warna kuning. Hal ini kemungkinan senyawa flavonoid dalam sampel ekstrak buah pala yang diuji terdapat dalam jumlah kecil. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada persamaan 4.4.

(Sumber: Marliana, dkk, 2005)



Gambar 4.4. Struktur Kimia Senyawa a. Antrakinon, b. Flavonoid, c. Suatu Alkaloid, d. Vitamin C

Tabel 4.3. Hasil Pemeriksaan Kandungan Kimia

No	Golongan	Pereaksi	Hasil
1	Vitamin C	Biru metilen	+
2	Alkaloid	Dragendorff	+
		Mayer	+
3	Flavonoid	Mg/ HCl	Tidak terdeteksi
4	Antrakinon	Benzena-NaOH	Tidak terdeteksi



BAB 5

PENUTUP

5.1 SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil simpulan sebagai berikut:

- 1. Lama waktu perendaman atau maserasi dan banyaknya volume perendam dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak buah pala. Semakin lama waktu perendaman maka aktivitas antioksidan ekstrak buah pala semakin besar. Pada variasi volume perendam, semakin banyak volume perendam semakin kecil aktivitas antioksidannya. Hal ini dapat dijelaskan sebagai berikut, semakin lama waktu maserasi, semakin banyak antioksidan yang terekstrak. Namun, semakin banyak volume perendam, konsentrasi antioksidan yang terekstrak mengalami pengenceran, sehingga aktivitas antioksidannya berkurang.
- 2. Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol dan ekstrak air buah pala. Pada ekstrak air, aktivitas antioksidannya lebih besar daripada ekstrak etanol. Senyawa yang bersifat antioksidan (vitamin C dan alkaloid) pada ekstrak buah pala lebih mudah larut dalam air dibanding dalam etanol, sehingga keduanya mudah terekstrak oleh pelarut air.

3. Kandungan kimia yang mempunyai aktivitas antioksidan dalam ekstrak buah pala adalah senyawa golongan alkaloid dan vitamin C, sedangkan pada pengujian antrakinon dan flavonoid hasilnya tidak terdeteksi.

5.2 SARAN

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam membuat ekstrak air dan ekstrak etanol buah pala dengan perbandingan massa buah pala dan volume ekstraktan yang sama.
- 2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap variasi konsentrasi kadar etanol yang digunakan untuk mengetahui etanol dengan konsentrasi berapa yang terbaik untuk mengekstrak.
- 3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kandungan kimia lain seperti fenol, antosianin, saponin, tanin, maupun keton pada buah pala yang mengandung senyawa antioksidan.
- 4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap struktur kimia senyawa yang mengandung aktivitas antioksidan pada buah Pala (*myristica fragran houtt*).

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S.. 2003. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Amrun dkk.2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (Chrysophyllum cainito L.) dari Daerah Jember. Berk. Penel. Hayati: 13 (45–50)
- Andarwulan dan Koswara., 1992, Kimia Vitamin, Raja Wali Pers, Bogor
- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 2008, *Vitamin C*, http://id.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C, di akses tanggal 6 September 2008.
- Anggraini, Sri. 1993. Pengaruh Perendaman dalam Larutan Garam, Lama dan Suhu Penyimpanan Terhadap Sifat Fisik Buah Tomat. Agritech Vol.3 no.2
- Arrijani, 2005. Biologi dan Konservasi Marga Myristica di Indonesia. Biodiversitas. Volume 6 Nomor 2.
- Blois, MS, 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature 181, 1199-1200.
- Buck, D.F. 1991. Antioxidants. Didalam: J. Smith, editor. Food Additive User's
- Belitz, H.D. dan W. Grosch. 1978. Food Chemistry. Springer Verlag, Berlin
- Coppen, P.P 1983. *The use of antioxidant*. Di dalam: J.C. Allen dan R.J Hamilton, editor. Rancidity in Foods. Applied Science Publishers, London.
- Dalimartha S dan Soedibyo M. 1998. Awet Muda. Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen. Trubus Agriwidya. Jakarta
- Forrester, A. R., Hay, J. M., and Thompson, R. H., 1968, *Organic Chemistry of Stable Free Radicals*, London: Academies Press.
- Gordon, M.H 1990. *The mechanism of antioxidants action in vitro*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants. Elsivier Applied Science, London.

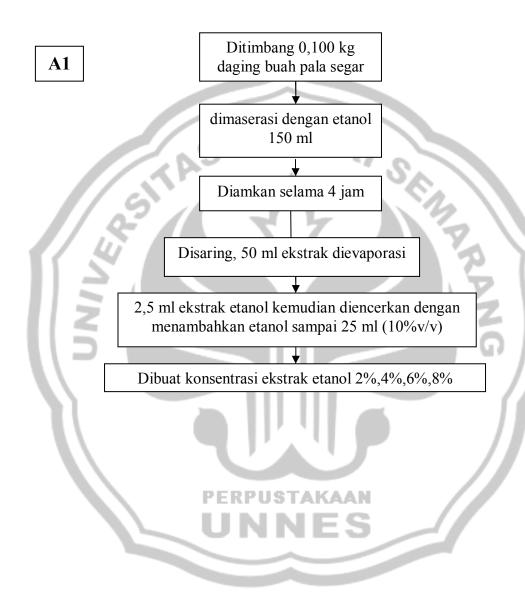
- Hanani, Abdul Mun'im dan Ryany Sekarini. 2007. *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia sp dari Kepulauan Seribu*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. II, No.3(127-133)
- Hamilton, R.J. 1983. *The chemistry of rancidity in foods*. Di dalam: J.C. Allen dan R.J. Hamilton, editor. Rancidity in Foods. Applied science Publishers, London.
- Hidayat MA dan Umiyah, 2005. Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Dari Daerah Sekitar Jember, *Simposium Nasional "Peningkatan Pemanfaatan Bahan Alam Dalam Penggunaan Klinis"*, Fak. Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya
- Hultin. H.O. 1994. Oxidation of Lipids in Seafoods. Di dalam Busta; J. R and Shalidi. F. (editor) Seafood: Chemistry. Processing Technology and Quality. Blackie Academic and Professional.
- Ismi. 2009. *Uji Aktivitas Antioksidan Blimbing Wuluh dengan 1,1 diphenil-2-pikril hidrazil*. Sripsi. Universitas Wahid Hasyim. Semarang
- M. Hadad EA, Randriani, C Firman dan T Sugandi. 2006. *Budidaya Tanaman Pala*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri. Parungkuda
- Markham, K. R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, ITB, Bandung
- Marliana S, Venti S, Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Mulja, M. dan Suharman, 1995, Analisa Instrumental, Airlangga University Press, Surabaya.
- Mursyidi, A., 1985, Statistika Farmasi dan Biologi, Ghalia Indonesia, Jakarta.
- Nakatani, N. 1992. Natural Antioxidants From Spices. Di dalam: M.T. Huang, C.T. Ho, dan C.Y. Lee, editor. Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health H. American Society, Washington DC.
- Nugraheni, 2007, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sunchus arvensis L.) serta Penentuan EC₅₀ dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Skripsi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang.

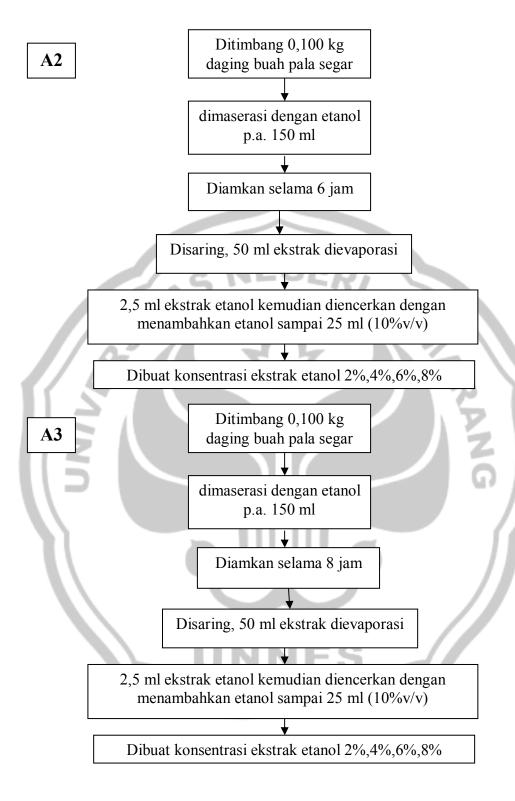
- Padmawinata dan Kokasih, 1997, Kimia Makanan, Edisi II, ITB, Bandung
- Prakash A,2001. *Antioxidant Activity*. Medailion Laboratories Analitical Progress,19(2).
- Praptiwi, Puspa Dewi dan Mindarti Harapini. 2006. Nilai peroksida dan aktivitas anti radikal bebas diphenyl picril hydrazil hydrate (DPPH) ekstrak metanol *Knema laurina* Majalah Farmasi Indonesia, 17(1), 32 –36.
- Prasetya, A.T. 2000. *Spektrofotometri Sinar Tampak*. Makalah disajikan dalam Diklat Penelitian. Himpunan Mahasiswa Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang. 23-24 September.
- Pratt, D.E. dan B.J.F. Hudson. 1990. *Natural Antioxidants not Exploited Comercially*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants. Elsevier Applied Science, London.
- Pratt, D.E. 1992. *Natural Antioxidants From Plant Material*. Di dalam: M.T. Huang, C.T. Ho, dan C.Y. Lee, editor. Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health H. American Society, Washington DC
- Pryor, William, A., 1966, *Free Radicals*, United States of America: Me Graw Hill Book Company
- Regina Andayani, Yovita Lisawati, dan Maimunah. 2003. *Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen Pada Buah Tomat (Solanum Lycopersicum L)*. Akreditasi DIKTI Depdiknas RI. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang
- Roth, H. J and Blaschhhe, G., 1994, *Analisis Farmasi*, Diterjemahkan oleh Kisman, s. & Ibrahim, Yogyakarta: UGM Press.
- Underwood, A.L dan Day. 1989. Analisis Kimia Kuantitatif. Jakarta: Erlangga
- Widjaya, C.H. 2003. Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh. Healthy Choice. Edisi IV
- Windono, T., Budiono, R., Ivone, Sherly, V., Saputro Y.2004. Studi Hubungan Struktur Aktivitas Kapasitas Peredaman Radikal Bebas Senyawa Flavonoid terhadap 1,1 difenil 2 pikrilhidrazil (DPPH). ITB. Bandung.
- Wijayati, Irene A, Linda S. 2009. Potensi Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper betle* L) sebagai antioksidan. Yayasan Pharmasi. Semarang.
- Youngson, R., 2005, Antioksidan Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan, Cetakan I, Arcan, Jakarta.

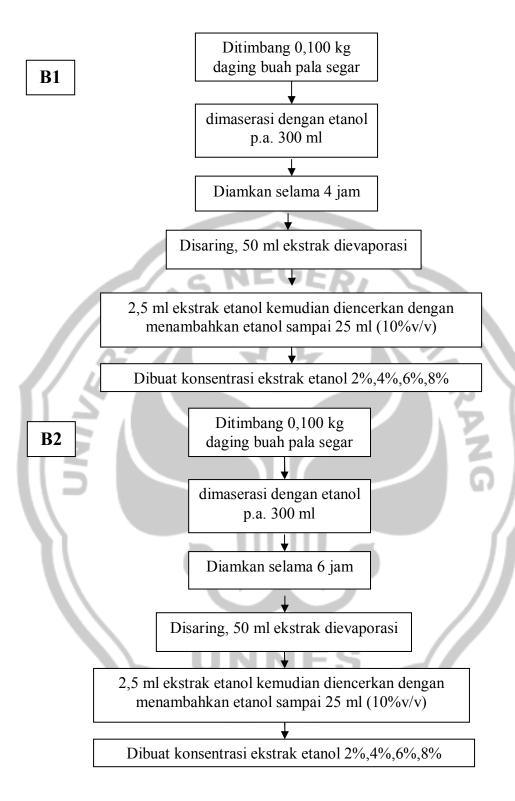
LAMPIRAN 1

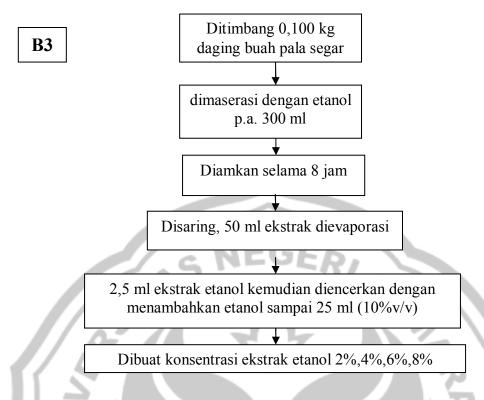
SKEMA KERJA

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Pala

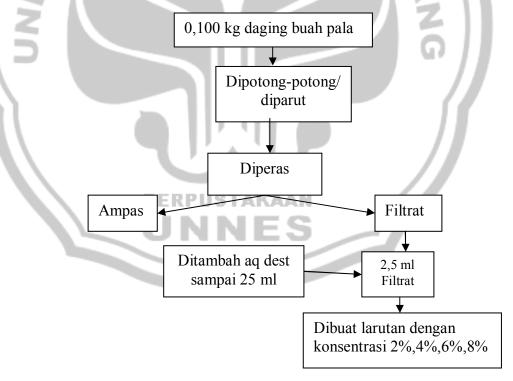




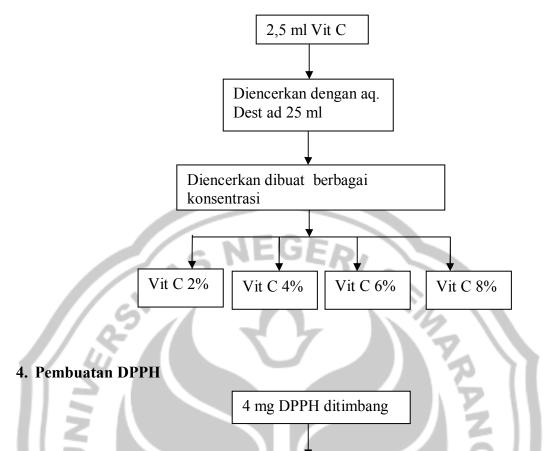




2. Pembuatan Ekstrak Air Buah Pala



3. Pembuatan Pembanding Vitamin C



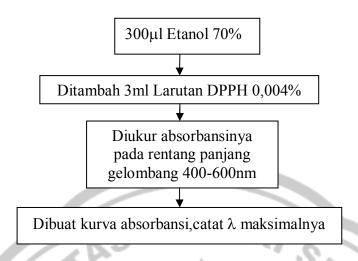
5. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ max) larutan DPPH 0,004%

PER

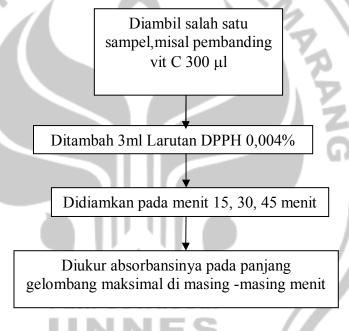
Dilarutkan dengan etanol p.a cukupkan sampai 100 ml

Untuk segera digunakan & dijaga pada suhu rendah serta

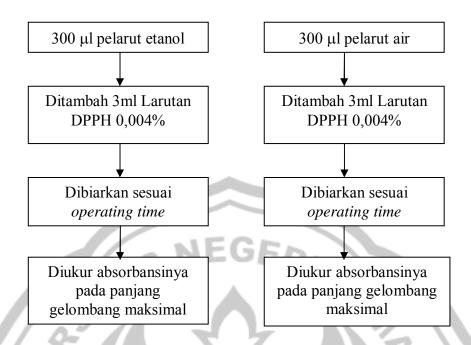
terlindung cahaya



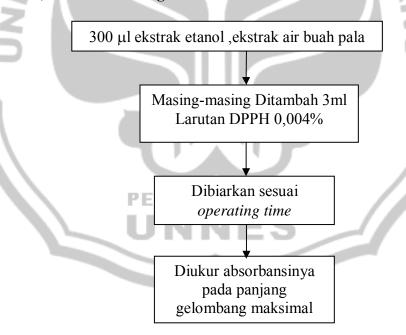
6. Penentuan Operating Time



7. Pengujian Anti Radikal Bebas DPPH blanko

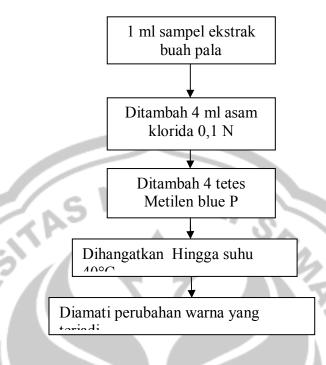


8. Pengujian Anti Radikal Bebas Ekstrak Etanol Buah Pala, Ekstrak Air Buah Pala, dan Pembanding Vitamin C

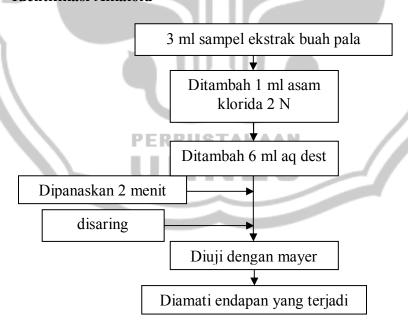


9. Pemeriksaan Kandungan Kimia

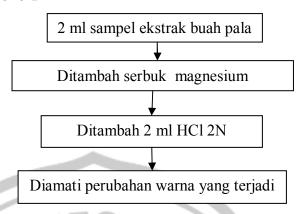
a. Identifikasi Vitamin C



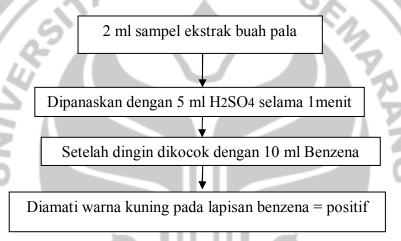
b. Identifikasi Alkaloid



c. Identifikasi Flavonoid



d. Identifikasi Antrakuinon





LAMPIRAN 2

PEMBUATAN LARUTAN UJI

Pembuatan DPPH 0,004%

Ditimbang 4 mg DPPH kristal secara hati-hati diruang dingin dan kurangi kontak dengan matahari langsung.

Dilarutkan dengan etanol ad 100 ml

Pembuatan HCL 2 N dan 0,1 N

Rumus:

V1 x N1 = V2 x N2
V1 x 13 N =
$$10 x 2 N$$

V1 = $\frac{20}{13}$ = 1,53 ml

Cara pembuatan:

2 ml aqua dest dimasukkan dalam labu 10 ml kemudian masukkan 1,53 ml HCl pekat secara perlahan melalui dinding labu. Kemudian encerkan dengan aqua dest sampai 10 ml kocok sampai tercampur secara merata.

Pembuatan NaOH 2 N

$$M = \frac{1000}{P} \times \frac{gr}{Mr}$$

$$2 = \frac{1000}{10} \times \frac{gr}{40}$$

$$80 = 100 \times \frac{PERgrUSTAKAAR}{gr}$$

$$gr = 0.8 \text{ gram NaOH(s)}$$

Ditimbang sebanyak 0,8 gram NaOH kemudian dilarutkan dengan aq dest sampai 10 ml

Pembuatan Reagen Dragendorff

Bismuth Nitrat 0,17 gr dilarutkan dengan aq dest 8ml Etanol 2 ml dilarutkan dengan aq dest 8ml KI 6 gr dilarutkan dengan aq dest 8ml

Ketiganya dikocok sampai tercampur merata.

Pembuatan Reagen Mayer

HgCl₂ 1,358 gram dilarutkan dengan aq dest 60 ml KI 6 gram dilarutkan dengan aq dest 10 ml Keduanya dicampur perlahan menggunakan tetes demi tetes.

Pembuatan Larutan dengan Variasi Konsentrasi

Ekstrak Air

Konsentrasi 10% = 2,5 ml ekstrak air perasan buah pala ditambah dengan aq.dest dicukupkan sampai 25 ml

Dari konsentrasi 10% tersebut diencerkan sebagai berikut :

Konsentrasi 2% = 2 ml ekstrak 10% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 4% = 4 ml ekstrak 10% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 6% = 6 ml ekstrak 10% ditambah dengan ag dest sampai 10ml

Konsentrasi 8% = 8 ml ekstrak 10% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Ekstrak Etanol

Konsentrasi 10% = 2,5 ml ekstrak ditambah dengan aq.dest dicukupkan sampai 25 ml

Dari konsentrasi 10% tersebut diencerkan sebagai berikut :

Konsentrasi 2% = 2 ml ekstrak 10% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 4% = 4 ml ekstrak 10% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 6% = 6 ml ekstrak 10% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 8% = 8 ml ekstrak 10% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Baku Pembanding (Vitamin C)

Konsentrasi 1% = Ditimbang 0,25 gram Vitamin C dilarutkan sampai 25 ml dengan aq.dest.

Konsentrasi 0.2% = 2 ml ekstrak 1% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 0,4% = 4 ml ekstrak 1% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 0,6% = 6 ml ekstrak 1% ditambah dengan aq dest sampai 10ml

Konsentrasi 0,8% = 8 ml ekstrak 1% ditambah dengan aq dest sampai 10ml



TABEL HASIL ABSORBANSI EKSTRAK BUAH PALA

Sampe	Konsentrasi	abso	orbansi		Sampe	Konsentrasi	abso	orbansi	
1	(%v/v)		(nm)	Rata-rata(nm)	1	(%v/v)		(nm)	Rata-rata(nm)
		I	0,108	, í			I	0,119	` ′
	2	II	0,112	0,1063		2	II	0,105	0,1150
ekstra		III	0,099	1	ekstra		III	0,121	1
k		I	0,097		k		I	0,116	
etanol	4	II	0,103	0,0983	etanol	4	II	0,098	0,1130
buah		Ш	0,095	1	buah		III	0,125	ĺ
pala		I	0,085		pala		I	0,104	
A1 (150	6	II	0,074	0,0823	B1 (300	6	II	0,113	0,1037
ml,4		III	0,088	1	ml,4		III	0,094	1
jam)		I	0,077		jam)		I	0,093	
J)	8	II	0,070	0,0730		8	II	0,088	0,0923
		Ш	0,072				Ш	0,096	ĺ
		I	0,109				I	0,117	
	2	II	0,098	0,1060	H (2	II	0,120	0,1103
ekstra		Ш	0,111	8 10	ekstra	-14	m	0,094	
k		I	0,090		k		Ī	0,111	
etanol	4	II 🗅	0,092	0,092	etanol	4	II	0,107	0,1110
buah		Ш	0,094	1	buah		III	0,115	
pala	7/ -	I	0,082	4	pala B2		I	0,093	2
A2 (150	6	II	0,076	0.0827	(300)	6	II	0,099	0,093
ml,6		Ш	0,090		ml,6		Ш	0,087	Y. \\
jam)	8	I	0,069		jam)		I	0,083	90
	8	II	0,072	0,0720		8	II	0,090	0,0827
		Ш	0,048				III	0,075	70 1
		I	0,100				I	0,113	
	2	II	0,111	0,1067		2	II	0,105	0,1093
ekstra		Ш	0,109		ekstra		Ш	0,110	
k		I	0,095		k		I	0,102	
etanol	4	II	0,088	0,0933	etanol	4	II	0,099	0,102
buah		Ш	0,097		buah		III	0,105	V / //
pala		I	0,081		pala		I	0,092	
A3 (150	6	II	0,075	0,0817	B3 (300	6	II	0,087	0,0897
ml,8		Ш	0,089		ml,8		III	0,090	
jam)	1	I	0,068		jam)		I	0,077	/ /
	8	II	0,054	0,0650		8	II	0,079	0,0763
- 1	/ /	III	0,073			. 4 /	III	0,073	
		I	0,093				I	0,120	
	2	II	0,11	0,0963		0,2	II	0,123	0,1163
		Ш	0,086	PERPU	JST	AKAAI	III	0,106	
		I	0,041	0.00	10. 1		I	0,101	
ekstra	4	II	0,033	0,0377		0,4	II	0,095	0,1033
k air	1	Ш	0,039		Vit C		III	0,114	
buah		I	0,04		Vit C		I	0,095	_
pala	6	II	0,023	0,0297		0,6	II	0,085	0,0973
		III	0,026				III	0,108	1
		I	0,007		1		I	0,084	
	8	II	0,014	0,0080		0,8	II	0,087	0,0837
	Ī	Ш	0,003	1 ′	I	l ´	III	0,080	† ·

LAMPIRAN 3

PERHITUNGAN PERSENTASE AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

% aktivitas antioksidan =	Abs kontrol – Abs sa Abs kontrol	mpel	X 100%
Sampel A1:			
- Konsentrasi 2%	0,158 - 0,1063		
% aktivitas antioksidan =	0,158	X 100% =	32,70 %
- Konsentrasi 4%	0.150 0.000		
% aktivitas antioksidan = —	$\frac{0,158 - 0,0983}{0,158}$	X 100% =	37,76 %
- Konsentrasi 6%	0,120		
% aktivitas antioksidan = ——	$\frac{0,158 - 0,0823}{0,158}$	X 100% =	47,89 %
- Konsentrasi 8%	4 7	12	17
% aktivitas antioksidan =	$\frac{0,158 - 0,073}{0,158}$	X 100% =	53,79 %
Sampel A2:	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	48.3	5
- Konsentrasi 2%			= 1
% aktivitas antioksidan = —	$\frac{0,158 - 0,1060}{0,158}$	X 100% =	32,91 %
- Konsentrasi 4%	0,120		G) /
% aktivitas antioksidan =	$\frac{0,158 - 0,0920}{0,158}$	X 100% =	41,772%
- Konsentrasi 6%	0,120		
% aktivitas antioksidan = ——	$\frac{0,158 - 0,0827}{0,158}$	X 100% =	47,89 %
- Konsentrasi 8%			//
% aktivitas antioksidan =	$\frac{0,158 - 0,0720}{0,158}$	X 100% =	54,43 %
Sampel A3:	INFS		
- Konsentrasi 2%			
% aktivitas antioksidan = —	$\frac{0,158-0,1067}{0,158}$	X 100% =	32,48 %
- Konsentrasi 4%	,		
% aktivitas antioksidan =	$\frac{0,158 - 0,0933}{0,158}$	X 100% =	41,772%
- Konsentrasi 6%	,		
% aktivitas antioksidan =	$\frac{0,158 - 0,0817}{0,158}$	X 100% =	47,679%
- Konsentrasi 8%	,		
% aktivitas antioksidan =	0,158 - 0, 0650 0,158	X 100% =	58,861%

Sampel B1:

- Konsentrasi 2%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158 - 0,1150}{0,158}$$
 X 100% = 27,215%

- Konsentrasi 4%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158-0,1130}{0,158}$$
 X 100% = 28,481%

- Konsentrasi 6%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158 - 0,1037}{0.158}$$
 X 100% = 34,388%

- Konsentrasi 8%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0.158 - 0.0923}{0.158}$$
 X 100% = 41,561%

Sampel B2:

- Konsentrasi 2%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158 - 0,1103}{0,158}$$
 X 100% = 30,168%

- Konsentrasi 4%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0.158 - 0.1110}{0.158}$$
 X 100% = 29,746%

- Konsentrasi 6%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158 - 0,0930}{0,158}$$
 X 100% = 41,139%

- Konsentrasi 8%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0.158 - 0.0827}{0.158}$$
 X 100% = 47,679%

Sampel B3:

- Konsentrasi 2%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158 - 0,1093}{0,158}$$
 X 100% = 30,802%

- Konsentrasi 4%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0.158 - 0.1020}{0.158}$$
 X 100% = 35,443%

- Konsentrasi 6%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0.158 - 0.0897}{0.158}$$
 X 100% = 43,249%

- Konsentrasi 8%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158 - 0,0763}{0,158}$$
 X 100% = 51,687%

Ekstrak air buah pala:

- Konsentrasi 2%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0,158 - 0,0963}{0,158}$$
 X 100% = 39,029%

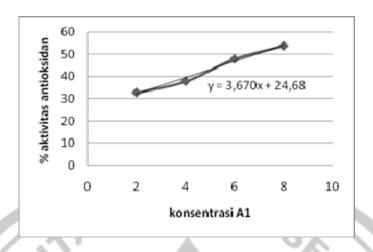
- Konsentrasi 4%

% aktivitas antioksidan =
$$\frac{0.158 - 0.0377}{0.158}$$
 X 100% = 76,160%

- Konsentrasi 6%		
% aktivitas antioksidan = —	0,158 - 0,0297 0,158	X 100% = 81,223%
- Konsentrasi 8%	ŕ	
% aktivitas antioksidan = —	$\frac{0,158 - 0,0080}{0,158}$	X 100% = 94,937%
Vit C:		
- Konsentrasi 2%		
% aktivitas antioksidan = —	0,158 - 0,1163 0,158	X 100% = 26,371%
- Konsentrasi 4%		
% aktivitas antioksidan = —	0,158 - 0,1033 0,158	X 100% = 34,599%
- Konsentrasi 6%	ILUER,	
% aktivitas antioksidan = —	0,158 - 0,0973 0,158	X 100% = 38,397%
- Konsentrasi 8%		
% aktivitas antioksidan =	0,158 - 0,0837 0,158	X 100% = 47,046%



LAMPIRAN 4 PERHITUNGAN IC₅₀



Gambar 1. Grafik Konsentrasi ekstrak buah pala (A1) vs % aktivitas antioksidan

Dari data yang diperoleh pada tabel kemudian dibuat grafik antara konsentrasi dengan % peredaman maka diperoleh nilai regresinya yaitu : y = 3,670x + 24,68

Kemudian untuk digunakan dalam perhitungan untuk IC50 sebagai berikut:

Diketahui : y = 3,670x + 24,68

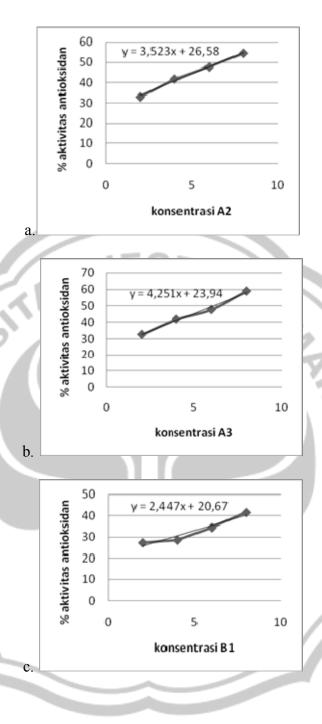
y = 50

Dicari : x = ?

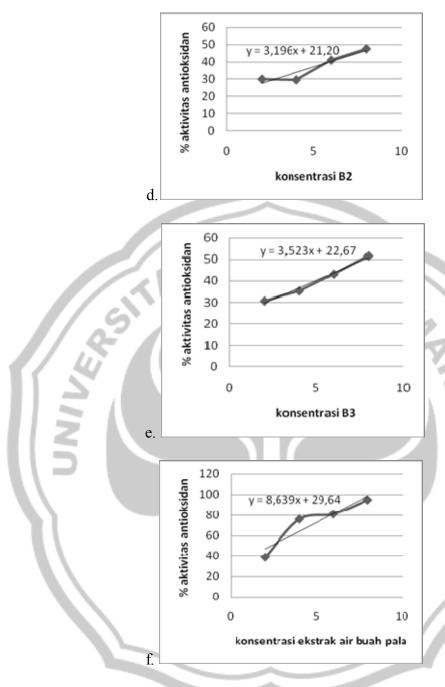
Jawab : x = (50 - 24,68) : 3,670

= 6,899 PERPUSTAKAAN

Dari perhitungan dapat nilai IC50 untuk A1 adalah 6,899



67



Gambar 2. (a.)Grafik Konsentrasi ekstrak buah pala (A2) vs % aktivitas antioksidan (b.) Grafik Konsentrasi ekstrak buah pala (A3) vs % aktivitas antioksidan (c.) Grafik Konsentrasi ekstrak buah pala (B1) vs % aktivitas antioksidan (d.) Grafik Konsentrasi ekstrak buah pala (B2)vs % aktivitas antioksidan (e.) Grafik Konsentrasi ekstrak buah pala (B3) vs % aktivitas antioksidan (f.) Grafik Konsentrasi ekstrak air buah pala vs % aktivitas antioksidan

Dengan cara yang sama diperoleh hasil:

Dari perhitungan didapat nilai IC₅₀ untuk A2 adalah 6,647

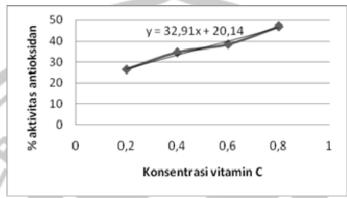
Dari perhitungan didapat nilai IC₅₀ untuk A3 adalah 6,130

Dari perhitungan didapat nilai IC₅₀ untuk B1 adalah 11,986

Dari perhitungan didapat nilai IC₅₀ untuk B2 adalah 9,011

Dari perhitungan didapat nilai IC₅₀ untuk B3 adalah 7,757

Dari perhitungan didapat nilai IC₅₀ untuk ektrak air buah pala adalah 2,356.



Gambar 3. Grafik Konsentrasi **Vitamin** C vs % aktivitas antioksidan Dari perhitungan didapat nilai IC₅₀ untuk vit C adalah 0,918

Jadi;

Nilai x yang diperoleh adalah nilai IC₅₀ yang dicari untuk menentukan aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak dan baku pembanding.

Diperoleh hasil semakin lama waktu maserasi semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh, maka semakin besar aktivitas antioksidannya.

IC₅₀ dari vitamin C lebih kecil dibanding dengan nilai IC ektrak air dan ekstrak etanol buah pala, maka vitamin C masih tetap memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibanding ektrak air dan ekstrak etanol buah pala.

LAMPIRAN 5

FOTO PENELITIAN



Mengupas buah pala



merajang buah pala



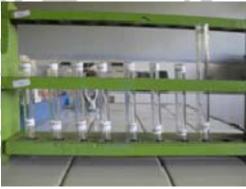
Maserasi buah pala



shaker ekstrak buah pala



Menyaring ekstrak buah pala



Penentuan Operating Time



Membuat Variasi Konsentrasi



Menimbang Vitamin C



Pengambilan sampel dengan pipet digital mikro



Sampel ditambah DPPH didiamkan sesuai Operating time



Sampel diuji dengan Spektrofotometri



Ekstrak di evaporasi

uji Kandungan Kimia

uji Kandungan Vit C



Smpl+HCl0,1N+met blue



dipanaskan







PERPUSTAKAAN

uji Kandungan Alkaloid



Smpl+HCl2N+air suling



dipanaskan 2mnt



dinginkan →saring



diuji dg Dragendorf&Mayer(+)

PERPUSTAKAAN UNNES

uji Kandungan Flavonoid



Smpl+Mg+HCl 2N



+Mg →gelembung2



+HCl→=/= warna jingga



uji Kandungan Antrakinon



Smp1+H2SO4+benzena+NaOH



+H₂SO₄



Dipanaskan



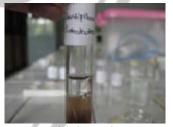
didinginkan



+ benzena



+ NaOH →



tidak terdapat lapisan kuning (-)

LAMPIRAN 7



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG (UNNES)

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM(FMIPA)

Telpon TU (024) 8508 | 12, Dekan 8508005, Mat 8508032, Fig 8508034, Bio 8508033, Kim 8508035

Website: http://mipa.unnes.ac.id. Emal: mipa@unnes.ac.id

Nomor

65/5 /H37.1.4/PP/2009

Lamp.

: Permohonan Ijin pengambilan bahan Hal

Kepada Yth. Pimpinan PT Perkebunan Nusantara IX

Jl. Mugas - Semarang

Kami beritahukan dengan hormat, bahwa mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang di bawah ini:

Nama

: Gigih Mitayani

NIM

: 4350405042

Semester

VIII/S1

Jurusan

: Kimia

: Kimia Prodi

Dalam rangka penyusunan Skripsi/Tugas Akhir II yang berjudul:

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Air Buah Pala (Myristica Fragan Houtt) Dengan Metode DPPH (1,1-defenil -2pikrilhidrazil).

Bermaksud mengambil bahan buah pala ke:

Tempat

: PT Perkebunan Nusantara IX (Jl. Mugas - Semarang)

Waktu

: Mei s/d seleai 2009

Berkenaan dengan hal tersebut, kami mohon dapat diberikan ijin pengambilan buah pala tersebut kepada mahasiswa yang bersangkutan pada tempat dan jadwal waktu tersebut

Demikian, atas perhatian dan kerjasama yang ciberikan, kami ucapkan terimakasih.

Mors. Kasmadi Imam S, MS

NIP 130781011

Tembusan:

- 1. Dekan FMIPA UNNES (Sebagai laporan)
- 2. Ka. Lemlit UNNES
- 3. Yang Bersangkutan

LAMPIRAN 8



Kampus Sekaran Gunungpati Gedung D Telp (024)8508035 Semarang 50229

Nomor :

/H37.1.4.4/PP/2008

Lamp.

: Permohonan ijin Pembelian Bahan Hal

Yth. Dekan Fakultas Farmasi UGM

Di Yogyakarta.

Kanii beritahukan dengan hermat, bahwa mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang berikut ini :

No.	Nama	NIM		
1	Gigih Mitayani	4350405042		

Dalam rangka menyelesaikan Tugas Akhimya, bermaksud membeli bahan Reagen 1-1 diphenil -2-pikril hidrazil sebanyak 40 mg. di Laboratorium Fakultas Farmasi UGM.

Berkenaan dengan hal tersebut, kami mohon dapat diberikan ijin pembelian kepada mahasiswa yang bersangkutan.

Demikian, atas perhatian dan kerjasama yang diberikan, kami ucapkan terimakasih.

Semarang, 18 Agustus 2009 etua Jurusan Kimia,

> Sigit Priatmoko, M.Si. 131965839