

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI FRAKSI AIR DAN
BUTANOL DARI EKSTRAK SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendens*)
DAN KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*) BESERTA BENTUK
TUNGGALNYA DENGAN METODE DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*)**



**Karya Tulis Ilmiah
Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan
Program Pendidikan DIII Farmasi**

Diajukan Oleh:

**Nur Kholillah Ali
NIM: 13259FB**

**AKADEMI FARMASI NASIONAL
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI FRAKSI AIR DAN
BUTANOL DARI EKSTRAK SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendens*)
DAN KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*) BESERTA BENTUK
TUNGGALNYA DENGAN METODE DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*)**

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan

Program Pendidikan DIII Farmasi

Diajukan oleh:

Nur Kholillah Ali

NIM : 13259 FB

AKADEMI FARMASI NASIONAL

SURAKARTA

2016

PENGESAHAN

Karya tulis ilmiah ini telah diuji dan dipertahankan di hadapan Dewan Penguji di

Akademi Farmasi Nasional Surakarta

Pada tanggal 26 Februari 2016

Surakarta, 31 MAY 2016

Direktur,



C.E. Dhurhamia, S. Farm., M.Sc.

Dewan Penguji :

1. Drs. Suharyanto, M.Si. (Ketua)

2. Suryanti, S.Si., Apt. (Anggota)

3. Susilowati, M.Sc., Apt. (Anggota)

PERSEMBAHAN

Pendidikan bukanlah suatu proses untuk mengisi wadah yang kosong, akan tetapi pendidikan adalah suatu proses menyalakan api pikiran.

(W.B. Yeats)

*Bekerjalah bagaikan tak butuh uang. Mencintailah bagaikan tak pernah disakiti.
Menarilah bagaikan tak seorang pun sedang menonton.*

(Mark Twain)

Karya tulis ini saya persembahkan kepada :

1. Keluarga tercinta (Bapak dan Ibu) terima kasih atas kasih sayang dan doa serta dukungan yang selalu diberikan kepada saya.
2. Semua teman-teman Akademi Farmasi Nasional Surakarta yang tercinta terima kasih atas semangat dan dukungannya.
3. Almamater Akademi Farmasi Nasional Surakarta.

PRAKATA

Puji syukur alhamdulillah atas segala nikmat yang Allah SWT, atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan dan menyusun karya tulis ilmiah berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI FRAKSI AIR DAN BUTANOL DARI EKSTRAK SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendens*) DAN KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*) BESERTA BENTUK TUNGGALNYA DENGAN METODE DPPH (1,1-Difenil-2-Pikridhidrazil)**”. Karya tulis ilmiah ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program Pendidikan Diploma III Farmasi di Akademi Farmasi Nasional Surakarta.

Penulisan dan penyusunan karya tulis ilmiah ini, tidak lepas dari bantuan beberapa pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu C. E. Dhurhania, S.Farm., M.Sc. selaku Direktur Akademi Farmasi Nasional.
2. Drs. Suharyanto, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
3. Suryanti, S.Si., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saran dan ilmu kepada penulis.
4. Susilowati, M.Sc., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saran dan ilmu kepada penulis.
5. Susi Rahmawati, Amd., selaku asisten dosen yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan serta saran yang berharga dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
6. Pak Bowo dan Pak Johan selaku laboran yang telah membantu penulis selama melaksanakan penelitian.

7. Kedua orang tua yang senantiasa memberikan cinta kasih sayang, dukungan moral, semangat serta doa yang tiada henti selama ini.
8. Segenap karyawan perpustakaan Akademi Farmasi Nasional Surakarta yang telah membantu mendapatkan buku-buku sebagai pedoman pembuatan karya tulis ilmiah ini.
9. Rekan-rekan mahasiswa dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.
10. Para pembaca yang budiman.

Penulis berharap saran dan kritik dari pembaca guna penyempurnaan penulisan karya tulis ilmiah ini. Penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Surakarta, Februari 2016

Penulis

INTISARI

Tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dikenal memiliki potensi antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Selama ini dikenal senyawa antioksidan sintetik yaitu BHT yang menyebabkan karsinogenik, oleh karena itu masyarakat berfikir *back to nature* dalam pengobatan penyakit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi fraksi air dan butanol dari ekstrak sarang semut dan kulit manggis (1:2) dan (2:1) dengan menggunakan metode DPPH beserta bentuk tunggalnya. Sampel diekstraksi dengan larutan penyari metanol kemudian difraksinasi dengan larutan butanol : air (1:1). Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa kombinasi fraksi air dan butanol sarang semut dan kulit manggis lebih baik dari bentuk tunggalnya. Aktivitas yang paling baik ditunjukkan pada kombinasi fraksi butanol sarang semut dan kulit manggis (2:1) dengan nilai IC₅₀ sebesar 14,1149 ppm.

Kata kunci : *antioksidan, sarang semut, kulit manggis, DPPH, fraksi air, fraksi butanol*

ABSTRACT

Sarang semut (*Myrmecodia pendens*) and mangosteen peel (*Garcinia mangostana* L.) are known to have antioxidant potential. Antioxidants are compounds that can inhibit oxidation reactions by binding free radicals and highly reactive molecules. During these known compounds are synthetic antioxidants are BHT carcinogenic, therefore people think back to nature in the treatment of water and butanol fraction extract combination sarang semut and mangosteen peel (1:2) and (2:1) with DPPH as well as the singular. Activities are best shown in combination butanol fraction sarang semut and mangosteen peel (2:1) with IC₅₀ value of 14,1149 ppm.

Keywords : Antioxidant, *sarang semut*, *mangosteen peel*, *DPPH*, *water fraction*, *butanol fraction*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PRAKATA	iv
INTISARI.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A.Latar Belakang	1
B.Rumusan masalah.....	4
C.Tujuan Penelitian	4
D.Manfaat penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A.Radikal Bebas	5
B.Antioksidan	5
C.Senyawa Flavonoid	7

D.Sarang Semut	10
1.Morfologi tumbuhan sarang semut	10
2.Klasifikasi tumbuhan sarang semut	10
3.Kandungan kimia tumbuhan sarang semut	11
4.Penelitian yang pernah dilakukan	11
E.Kulit Manggis.....	12
1.Morfologi tumbuhan manggis	12
2.Klasifikasi.....	13
3.Kandungan kimia kulit manggis	13
4.Penelitian yang pernah dilakukan	14
F.Vitamin C	14
G. Maserasi.....	15
H.Metode DPPH.....	17
I.Spektrofotometri.....	19
J. Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A.Desain Penelitian	22
B.Tempat Dan Waktu Penelitian	22
C.Populasi Dan Sampel.....	22
D.Besar Sampel	22
E.Kerangka Pikir.....	23
F.Jalannya Penelitian	24

G.Cara Kerja.....	25
1.Alat	25
2.Bahan	25
3.Persiapan sampel.....	25
4.Ekstraksi sampel	25
5.Fraksinasi ekstrak dengan n-butanol dan air (1:1).....	26
6.Skrining fitokimia (Harbone, 1987).....	26
7.Pengujian akivitas antioksidan pada fraksi n-butanol dan fraksi air	27
H.Analisis Data.....	32
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
A.Persiapan Sampel	34
B.Ekstraksi	35
C.Fraksinasi.....	36
D.Skrining Fitokimia	37
1.Uji Flavonoid.....	37
2.Uji Alkaloid	38
3.Uji Tanin.....	39
4.Uji Saponin	400
E.Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	41
1.Penentuan aktivitas antioksidan vitamin C	44
2.Penentuan aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak sarang semut.....	46
3.Penentuan aktivitas antioksidan fraksi butanol ekstrak sarang semut	48
4.Penentuan aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak kulit manggis	50

5.Penentuan aktivitas antioksidan fraksi butanol ekstrak kulit manggis	52
6.Penentuan aktivitas antioksidan kombinasi fraksi air ekstrak sarang semut dan fraksi air ekstrak kulit manggis	54
7.Penentuan aktivitas antioksidan kombinasi fraksi butanol ekstrak sarang semut dan fraksi butanol ekstrak kulit manggis (1:2) dan (2:1)	57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	622
A. KESIMPULAN.....	622
B. SARAN.....	622
DAFTAR PUSTAKA	623
LAMPIRAN	625

DAFTAR TABEL

Tabel I Kandungan Kimia Sarang Semut	11
Tabel II Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH	19
Tabel III Persen Penangkapan DPPH Vitamin C	46
Tabel IV Persen Penangkapan DPPH Fraksi Air Ekstrak Sarang Semut	48
Tabel V Persen Penangkapan DPPH Fraksi Butanol Ekstrak Sarang Semut	50
Tabel VI Persen Penangkapan DPPH Fraksi Air Ekstrak Kulit Manggis	53
Tabel VII Persen Penangkapan DPPH Fraksi Butanol Ekstrak Kulit Manggis	55
Tabel VIII Persen Penangkapan DPPH Kombinasi Fraksi Air Ekstrak Sarang Semut dan Kulit Manggis (1:2)	57
Tabel IX Persen Penangkapan DPPH Kombinasi Fraksi Air Ekstrak Sarang Semut dan Kulit Manggis (2:1)	57
Tabel X Persen Penangkapan DPPH Kombinasi Fraksi Butanol Ekstrak Sarang Semut dan Kulit Manggis (1:2).....	60
Tabel VIII Persen Penangkapan DPPH Kombinasi Fraksi Butanol Ekstrak Sarang Semut dan Kulit Manggis (2:1)	60
Tabel XII Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C, Fraksi Air Ekstrak Sarang Semut dan Kulit Manggis, Fraksi Butanol Ekstrak Sarang Semut dan Kulit Manggis, Kombinasi Fraksi Air dan Butanol Ekstrak Sarang Semut dan Kulit Manggis (1:2) Dan (2:1)	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Senyawa Flavonoid	8
Gambar 2. Tumbuhan Sarang Semut.....	10
Gambar 3. Kulit Manggis.....	13
Gambar 4. Struktur Vitamin C	15
Gambar 5. Struktur Dpph.....	17
Gambar 6. Uji Flavonoid Fraksi Air Dan Butanol Sarang Semut	38
Gambar 7. Uji Flavonoid Fraksi Air Dan Butanol Kulit Manggis	38
Gambar 8. Uji Alkaloid Fraksi Air Dan Butanol Sarang Semut	40
Gambar 9. Uji Alkaloid Fraksi Air Dan Butanol Kulit Manggis	40
Gambar 10. Uji Tanin Fraksi Air Dan Butanol Sarang Semut.....	41
Gambar 11. Uji Tanin Fraksi Air Dan Butanol Kulit Manggis	41
Gambar 12. Uji Saponin Fraksi Air Dan Butanol Sarang Semut	42
Gambar 13. Uji Saponin Fraksi Air Dan Butanol Kulit Manggis	43
Gambar 14. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal	46
Gambar 15. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Vitamin C	47
Gambar 16. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Fraksi Air Sarang Semut.....	49

Gambar 17. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Fraksi Butanol Sarang Semut.....	51
Gambar 18. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Fraksi Air Kulit Manggis	53
Gambar 19. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Fraksi Butanol Kulit Manggis.....	55
Gambar 20. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Kombinasi Fraksi Air Sarang Semut Dan Kulit Manggis (1:2)	58
Gambar 21. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Kombinasi Fraksi Air Sarang Semut Dan Kulit Manggis (2:1)	58
Gambar 22. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Kombinasi Fraksi Butanol Sarang Semut Dan Kulit Manggis (1:2)	61
Gambar 22. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dengan % Inhibisi Kombinasi Fraksi Butanol Sarang Semut Dan Kulit Manggis (1:2)	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Proses Maserasi	65
Lampiran 2. Hasil Randemen	65
Lampiran 3. Uji skrining fitokimia	66
Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Reagen dan Pengenceran	69
Lampiran 6. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimal dan Operating Time	82
Lampiran 7. Data Perhitungan Nilai IC ₅₀	83

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbitan luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang atau mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya (Winarsi, 2007).

Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang segera menarik atau menyerang elektron di sekelilingnya. Senyawa radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal.

Reaksi oksidasi sering terjadi setiap saat. Pada saat bernafas juga terjadi reaksi oksidasi. Reaksi ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Namun, reaktifitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2007).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu mengaktifasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat. Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi.

Selama ini dikenal antioksidan sintetik untuk menangkal adanya radikal bebas, seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) yang biasa digunakan sebagai bahan tambahan pengawet didalam daging, namun penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena ternyata dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) ternyata bersifat karsinogenik, sehingga untuk mengatasi hal tersebut masyarakat sekarang ini cenderung berfikir untuk *back to nature* atau mencari pengobatan tradisional (senyawa antioksidan alam pada tumbuhan) untuk mengatasi berbagai penyakit termasuk radikal bebas, misalnya seperti flavonoid, karoten, albumin, dan lain-lain. Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh karena memiliki sifat oksidator yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Takashi dan Takayuni, 1997).

Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang baik untuk makanan maupun pengobatan seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang radikal bebas. Stres oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan didalam tubuh (Winarsi, 2007).

Sarang semut (*Myrmecodia pendens*) merupakan tanaman yang berasal dari Papua, yang secara tradisional telah digunakan oleh penduduk asli Papua untuk mengobati berbagai penyakit. Berdasarkan penelitian tanaman ini mengandung senyawa aktif penting tokoferol, flavonoid, fenolik dan kaya berbagai mineral yang sangat berguna sebagai antioksidan dan anti kanker. Kandungan tokoferol dan flavonoid dalam sarang semut ini diduga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Pada penelitian sebelumnya, ekstrak sarang semut

(*Myrmecodia pendens*) dapat memberikan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 30,66µg/ml (Busanussalam, 2010).

Buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada umumnya dikonsumsi daging buahnya sedangkan kulinya dibuang. Hal ini sangat disayangkan karena peningkatan nilai ekonomis buah manggis dapat dilakukan dengan memanfaatkan kulitnya. Hasil penapisan fitokimia ekstrak kulit manggis menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung komponen kimia alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, terpenoid, steroid dan glikosida. Pada pengujian antioksidan kulit kering buah manggis memberikan nilai IC₅₀ sebesar 26,70 ppm (Hadriyono, 2011).

Kombinasi beberapa antioksidan dapat memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap oksidasi dibandingkan satu jenis antioksidan saja. Hal ini ditunjukkan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu pada pengujian aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dan ekstrak teh hitam (*Camellia sinensis*) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) dari hasil penelitian tersebut diketahui nilai EC₅₀ yang diberikan lebih kecil daripada nilai EC₅₀ dari bentuk tunggalnya. Pada perbandingan sarang semut dan teh hitam 1:1 yaitu 2,392530,66 µg/ml, diikuti dengan perbandingan 2:1 sebesar 2,644330,66 µg/ml, perbandingan 1:2 sebesar 3,613230,66 µg/ml, sedangkan nilai EC₅₀ sarang semut yaitu sebesar 3,683030,66 µg/ml dan nilai EC₅₀ teh hitam sebesar 8,172030,66 µg/ml (Anang, dkk, 2010).

B. Rumusan masalah

1. Apakah aktivitas antioksidan kombinasi fraksi air dari ekstrak sarang semut dan kulit manggis lebih baik dari bentuk tunggalnya?
2. Apakah aktivitas antioksidan kombinasi butanol dari ekstrak sarang semut dan kulit manggis lebih baik dari bentuk tunggalnya?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah aktivitas antioksidan kombinasi fraksi air dari ekstrak sarang semut dan kulit manggis lebih baik dari pada bentuk tunggalnya.
2. Mengetahui apakah aktivitas antioksidan kombinasi butanol dari ekstrak sarang semut dan kulit manggis lebih baik dari pada bentuk tunggalnya.

D. Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi kepada masyarakat tentang aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi air dan kombinasi fraksi butanol dari ekstrak sarang semut (*Mymercodia pendens*) dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) dengan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimental karena dalam penelitian ini mencoba menggabungkan hasil uji aktivitas antioksidan fraksi air dan butanol kombinasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*).

B. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Akademi Farmasi Nasional Surakarta pada bulan November 2015 sampai dengan Januari 2016.

C. Populasi Dan Sampel

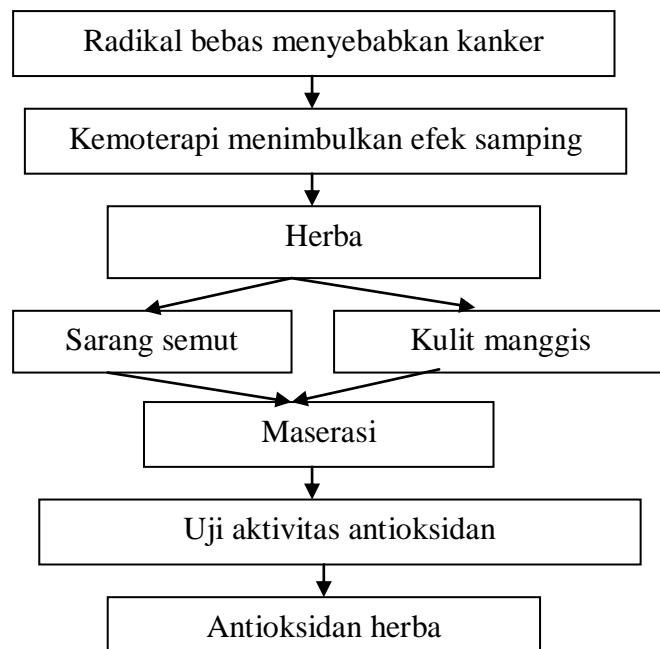
Populasi dalam penelitian ini adalah sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yang diperoleh dari Papua dan kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) dari Surakarta. Sampel dalam penelitian ini adalah sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yang diperoleh dari toko pondok obat Wamena-Papua dan kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) diperoleh dari toko akar sari Surakarta-Jawa Tengah.

D. Besar Sampel

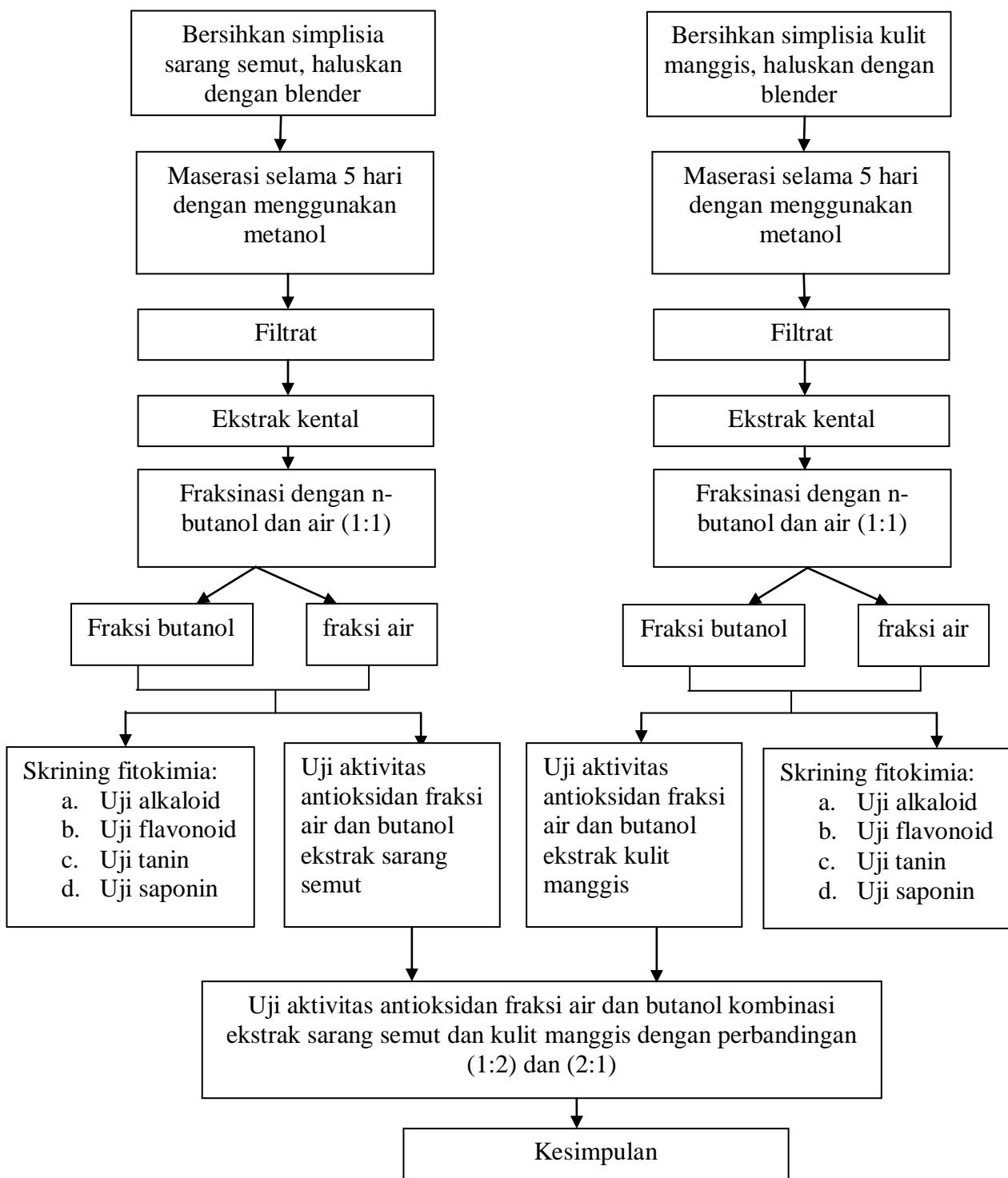
Pada penelitian ini dibutuhkan 200 gram serbuk sarang semut (*Myrmecodia pendens*) di maserasi dengan pelarut metanol dan diuapkan hingga

diperoleh ekstrak kering serta dengan perlakuan yang sama dilakukan pada 200 gram serbuk kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.).

E. Kerangka Pikir



F. Jalannya Penelitian



G. Cara Kerja

1. Alat

Alat yang digunakan adalah gunting, blender, bejana maserasi, batang pengaduk, corong kaca, beaker glass, cawan porselen, kain flanel, spatel logam, corong pisah, tabung reaksi, pipet tetes, water bath, spektrofotomeri UV-Vis, sepasang kuvet, neraca analitik, labu ukur, pipet volume, gelas ukur, serbet, kaca arloji.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah serbuk sarang semut (*Myrmecodia pendens*), serbuk kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.), etanol 70%, n-butanol, air, serbuk Mg, HCl pekat, Kloroform, amoniak, H₂SO₄, Dragendorff, metanol, FeCl₃, NaCl 10%, gelatin, HCL 2N, DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*), Vitamin C.

3. Persiapan sampel

Sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dikeringkan, kemudian setelah kering diserbuk halus dengan menggunakan blender kemudian diayak dengan ayakan 100 mesh. Hasil yang diperoleh digunakan untuk sampel penelitian.

4. Ekstraksi sampel

Sampel serbuk sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebanyak 200 gram dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Maserasi dilakukan selama 5x24 jam

pada suhu kamar sambil sesekali diaduk, setelah 5 hari dilakukan penyaringan sehingga diperoleh maserat (filtrat). Filrat yang diperoleh ditampung kemudian dipekatkan dengan cara diuapkan diatas *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kemudian ditimbang.

5. Fraksinasi ekstrak dengan n-butanol dan air (1:1)

Timbang ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) masing-masing 10 gram larutkan dalam 100 ml air tambahkan 100 ml n-butanol, lakukan fraksinasi. Kemudian dari masing-masing fraksi diuapkan hingga menjadi ekstrak kering.

6. Skrining fitokimia (Harbone, 1987)

a. Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambah akuades dipanaskan selama lima menit didalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambah beberapa tetes HCl pekat. Kemudian ditambah 0,2 gram bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua dalam waktu 3 menit.

b. Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan 5 ml kloroform dan didiamkan selama 30 menit. Filtrat pipet dan ditambahkan 2,5 ml amoniak 0,05 N dan ditambahkan H_2SO_4 2M sebanyak 2,5 ml, dikocok dan akan terbentuk dua lapisan. Fraksi asam dianalisis dengan

pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan kuning dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil yang positif.

c. Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambah dengan metanol 5 ml sampai sampel terendam semuanya dan disaring. Kemudian tambahkan 2 tetes NaCl 10% saring, dan tambahkan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru, hijau, atau hitam kuat menunjukkan adanya tanin terkondensasi.

d. Saponin

Sebanyak 2 gram sampel sarang semut dan kulit manggis yang telah dihaluskan, dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan air suling hingga seluruh cuplikan terendam, didihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

7. Pengujian akivitas antioksidan pada fraksi n-butanol dan fraksi air

a. Preparasi sampel

1) Pembuatan larutan baku induk DPPH 100 ppm

Timbang dengan seksama 10,0 mg krisal DPPH ditambah etanol 70% dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas. Larutan dijaga pada suhu rendah dan terlindungi cahaya matahari untuk segera digunakan.

2) Pembuatan larutan baku kerja DPPH 50 ppm

Pipet larutan DPPH 100 ppm sebanyak 50 ml ditambah etanol 70% dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas.

3) Pembuatan larutan sampel induk 1000 ppm

Timbang dengan seksama fraksi n-butanol dan air masing-masing 100,0 mg ditambah etanol 70% dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas.

4) Pembuatan larutan sampel fraksi n-butanol sarang semut dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm
Pipet masing-masing 0,05 ml; 0,1 ml; 0,15 ml; 0,2 ml; dan 0,25 ml fraksi n-butanol dari sampel induk sarang semut, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.

5) Pembuatan larutan sampel fraksi n-butanol kulit manggis dengan konsentrasi 30 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm
Pipet masing-masing 0,3 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; dan 1 ml fraksi n-butanol dari sampel induk kulit manggis, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.

6) Pembuatan larutan sampel fraksi air sarang semut dengan konsentrasi 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm
Pipet masing-masing 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; 0,7 ml; dan 0,8 ml fraksi air dari sampel induk sarang semut, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.

- 7) Pembuatan larutan sampel fraksi air kulit manggis dengan konsentrasi 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm dan 175 ppm
Pipet masing-masing 0,75 ml; 1 ml; 1,25 ml; 1,5 ml; dan 1,75 ml fraksi air dari sampel induk kulit manggis, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.
- 8) Pembuatan larutan sampel induk fraksi air dan butanol kombinasi ekstrak sarang semut dan kulit manggis dengan perbandingan (1:2) dan (2:1)
Timbang dengan seksama fraksi n-butanol dan air masing-masing 100,0 mg ditambah etanol 70% dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas.
- 9) Pembuatan larutan sampel kombinasi fraksi air ekstrak sarang semut dan kulit manggis dengan perbandingan 1:2 dengan konsentrasi 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm, 50 ppm dan 55 ppm
Pipet masing-masing 0,35 ml; 0,4 ml; 0,45 ml; 0,5 ml; dan 0,55 ml fraksi air dari sampel induk, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.
- 10) Pembuatan larutan sampel kombinasi fraksi air ekstrak sarang semut dan kulit manggis dengan perbandingan 2:1 dengan konsentrasi 30 ppm, 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm, dan 50 ppm.
Pipet masing-masing 0,3 ml; 0,35 ml; 0,4 ml; 0,45 ml; dan 0,5 ml fraksi air dari sampel induk, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.

- 11) Pembuatan larutan sampel kombinasi fraksi butanol ekstrak sarang semut dan kulit manggis dengan perbandingan 1:2 dengan konsentrasi 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm, 50 ppm dan 55 ppm
Pipet masing-masing 0,35 ml; 0,4 ml; 0,45 ml; 0,5 ml; dan 0,55 ml butanol dari sampel induk, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.
- 12) Pembuatan larutan sampel kombinasi fraksi butanol ekstrak sarang semut dan kulit manggis dengan perbandingan 2:1 dengan konsentrasi 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm, 50 ppm dan 55 ppm
Pipet masing-masing 0,35 ml; 0,4 ml; 0,45 ml; 0,5 ml; dan 0,55 ml butanol dari sampel induk, sampel ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 10,0 ml sampai tanda batas.
- 13) Penentuan panjang gelombang maksimum
Larutan DPPH 50 ppm dalam etanol 70% diukur pada rentang 400-600 nm. Amati kurva hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi, tentukan panjang gelombang maksimumnya.
- 14) Penentuan operating time (OT)
Pipet 1,0 ml sampel ditambah dengan 3 ml larutan DPPH 40 ppm, serapan larutan tersebut diukur pada menit ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 pada panjang gelombang maksimum hingga diperoleh serapan yang stabil.

b. Pengukuran aktivitas antioksidan

1) Pembuatan dan pengukuran larutan kontrol

Pipet 1,0 ml etanol 70% tambahkan 3,0 ml larutan DPPH 80 ppm, campuran dimasukkan ke dalam kuvet diukur absorbansinya pada λ maksimum.

2) Pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C

Timbang seksama 10,0 ml vitamin C, larutkan dengan 100,0 ml etanol 70% hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian lakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 11, 12, 13, 14, dan 15 ppm. Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet 1,0 ml larutan sampel kemudian ditambahkan 3,0 ml larutan DPPH 50 ppm, campuran dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada λ maksimum.

3) Pengukuran absorbansi aktivitas antioksidan fraksi n-butanol

Pipet 1,0 ml larutan uji fraksi n-butanol kemudian ditambahkan 3,0 ml larutan DPPH 50 ppm, campuran dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada λ maksimum.

4) Pengukuran absorbansi aktivitas antioksidan fraksi air

Pipet 1,0 ml larutan uji fraksi air kemudian ditambahkan 3,0 ml larutan DPPH 50 ppm, campuran dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada λ maksimum.

5) Pengukuran absorbansi aktivitas antioksidan kombinasi fraksi air dan butanol ekstrak sarang semut dan kulit manggis

Pipet larutan uji dari masing-masing fraksi 1,0 ml kemudian ditambahkan 3,0 ml larutan dpph 50 ppm, campuran dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada λ maksimum.

H. Analisis Data

1. Hasil uji penangkapan radikal bebas dengan metode DPPH pada fraksi n-butanol dan air kombinasi ekstrak sarang semut dan kulit manggis dipaparkan sebagai hasil penelitian, sehingga didapatkan jumlah persen penangkapan radikal bebas dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

- a. Absorbansi kontrol = Absorbansi DPPH
- b. Absorbansi sampel
 - 1) Absorbansi fraksi air sarang semut
 - 2) Absorbansi fraksi butanol sarang semut
 - 3) Absorbansi fraksi air kulit manggis
 - 4) Absorbansi fraksi butanol kulit manggis
 - 5) Absorbansi kombinasi fraksi air sarang semut dan kulit manggis (1:2)
 - 6) Absorbansi kombinasi fraksi air sarang semut dan kulit manggis (2:1)
 - 7) Absorbansi kombinasi fraksi butanol sarang semut dan kulit manggis (1:2)

- 8) Absorbansi kombinasi fraksi butanol sarang semut dan kulit manggis (2:1)
2. Penentuan nilai IC₅₀

Dilakukan perhitungan nilai IC₅₀ yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi fraksi dari eksrak uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% melalui persamaan garis regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa (sampel) uji (X) dengan aktivitas penangkap radikal bebas rata-rata (Y) dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC₅₀-nya maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal bebas yang lebih baik.

Data hasil penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi linier , yaitu:

$$y = Bx + A$$

Keterangan:

x: Konsentrasi sampel

y: Persen inhibisi

A: Intercept

B: Slope

IC₅₀ dapat dituliskan dengan cara mengubah nilai y = 50

$$50 = Bx + A$$

$$X = \frac{50 - A}{B} = IC_{50}$$

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Kombinasi fraksi air sarang semut dan kulit manggis dengan perbandingan 1:2 dan 2:1 mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih baik dari bentuk tunggalnya. Dari kedua perbandingan diperoleh hasil yang paling baik yaitu perbandingan 2:1 dengan nilai IC₅₀ sebesar 48,0417 ppm.
2. Kombinasi fraksi butanol sarang semut dan kulit manggis dengan perbandingan 1:2 dan 2:1 mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih baik dari bentuk tunggalnya. Dari kedua perbandingan diperoleh hasil yang paling baik yaitu perbandingan 2:1 dengan nilai IC₅₀ sebesar 14,1149 ppm.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian tentang isolasi senyawa metabolit sekunder dalam fraksi butanol dari ekstrak sarang semut maupun kulit manggis agar diketahui senyawa yang bertanggung jawab sebagai antioksidan

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi R, 2010, Flavonoid : Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis, Jurnal Belian, **Volume 9**, Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak, Pontianak
- Agusri Boestari, dkk., 2010, Penetapan Kadar Fenolat Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Segar Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linn.*), Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, **Volume 15**, Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang, Padang
- Anang, dkk., 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) & Eksrak Teh (*Camelia sinensis*) dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazyl), Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Yayasan Pharmasi, Semarang
- Busanussalam, 2010, Penentuan Struktur Molekul dari Fraksi Air Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens Merr & Pery*) yang Mempunyai Aktivitas Sitotoksik dan Sebagai Antioksidan, Skripsi, Insitut Pertanian Bogor, Bogor
- Depkes RI, 1986, *Sediaan Galenik*, Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Giorgio, P, 2000, Flavonoid as Antioxidant, Journal National roduct, 63:1035-1045
- Hadriyono, 2011, Karakter Kulit Manggis, Kadar Polifenol dan Potensi Antioksidan Kulit (*Garcinia Mangosana L*) pada Berbagai Umur Buah dan Setelah Buah Dipanen, Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Harbone, J. B, 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung
- Harjadi, 1990, *Ilmu Kimia Analitik Dasar*, Gramedia, Jakarta
- <http://www.kapsulsarangsemut.com/wp-content/uploads/2011/05/gambar-sarang-semut.jpg> diakses pada tanggal 10 Oktober 2015
- Khopkar SM, 2002, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta
- Koswara, Nurul Andarwulan S, 1993, *Kimia Vitamin*, ITB, Bogor
- Maharani. 2011. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jawer Kotok Dengan Metode DPPH*. Akademi Farmasi Nasional Surakarta. Surakarta

- Markham, K, R. 1998. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Terjemahan: Institut Teknologi Bandung.Bandung
- Masniari Poeloengan, 2010, Uji Aktivitas Antibakeri Kulit Manggis (*Garcinia mangostana Linn*), Media Litbang Kesehatan **Volume XX** Nomer 2 Tahun 2010
- Muctadi, 2013, *Antioksidan dan Kiat Sehat Di Usia Produktif*, Alfabeta, Bandung
- Mulja, Suherman, 1995, *Analisis Instrumen*, Airlangga University Press, Surabaya
- Pokorny., et al, 2001, Antioxydant in food; Partical in aplication, CRC Press, New York
- Robinson, 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, UGM, Yogyakarta
- Sarastani, dkk., 2002, Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung (*Parinarium glaberrimum Hassk.*), Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, **Volume XIII**
- Subroto, M.A, dan Saputro, H, 2006, *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*, Penyebar Swadaya, Jakarta
- Stevi, dkk, 2012, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*), jurnal MIPA Unsrat, Manado
- Takashi, Miyake and Takayumi, 1997, Antioxydant Acivities of Natural Compound Found in plants, J. Agric, Food Chem, 45, 1819-1822
- Winarsi, H, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta