

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK
DAUN BAYAM (*Amaranthuscruentus L.*) DAN EKSTRAK
DAUN SELADA (*Lactuca sativa L.*) BESERTA BENTUK
TUNGGALNYA DENGAN METODE DPPH
(*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*)**



Karya Tulis Ilmiah

**Oleh :
Murtiana Noviyanti
NIM : 15498 FA**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK DAUN
BAYAM (*Amaranthuscruentus L.*) DAN EKSTRAK DAUN SELADA
(*Lactuca sativa L.*) BESERTA BENTUK TUNGGALNYA DENGAN
METODE DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF COMBINATION
EXTRACT OF SPINCH LEAVES (*Amaranthuscruentus L.*) AND
LETTUCE LEAF (*Lactuca sativa L.*) ALONG WITH ITS SINGLE
FORM WITH DPPH METHOD
(*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*)**



**KARYA TULIS ILMIAH
Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan
Program pendidikan DIII farmasi**

**Oleh:
Murtiana Noviyanti
NIM :15498 FA**

**PRODI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
2018**

Karya Tulis Ilmiah

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK DAUN
BAYAM (*Amaranthuscruentus L.*) DAN EKSTRAK DAUN SELADA
(*Lactuca sativa L.*) BESERTA BENTUK TUNGGALNYA DENGAN
METODE DPPH
(1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl)**

Disusun Oleh:
MURTIANA NOVIYANTI
NIM. 15498 FA

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/ sah

Pada tanggal 12 Februari 2018

Tim Penguji:

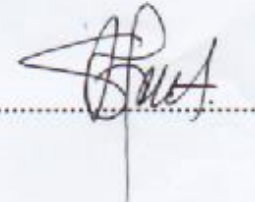
Devina Ingrid Anggraini, S.Si., M.Si. (Ketua)



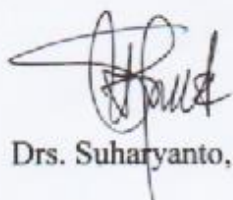
Wimpy, M.Pd. (Anggota)



Drs. Suharyanto, M.Si. (Anggota)



Menyetujui,
Pembimbing Utama



Drs. Suharyanto, M.Si.

Mengetahui,
Ketua Program Studi
DHI Farmasi



Iwan Setiawan, M.Sc., Apt.

PERSEMBAHAN

Karya tulis ini ku persembahkan untuk :

1. Allah SWT, atas semua nikmat dan karunia-NYA serta senantiasa memberiku kemudahan dan kelancaran dalam hidup.
2. Kedua orangtuaku beserta segenap keluarga tersayang yang selalu memberikan dukungan, doa, motivasi, semangat, bimbingan, dan segala yang terbaik untukku.
3. Sahabat-sahabat ku tersayang yang selalu memberikan dukungan, do'a, dan semangat dalam menyelesaikan tugas akhir ku.
4. Teman-teman STIKES DIII farmasi Nasional, terimakasih atas kerjasamanya.
5. Almamaterku STIKES NASIONAL SURAKARTA yang ku banggakan.

Untuk semua pihak yang telah membantuku terimakasih

MOTTO

“orang-orang hebat dibidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja.

Mereka tidak menyia-nyiakan waktu untuk menunggu inspirasi “

Ernest newman

PRAKATA

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-NYA, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK DAUN BAYAM (*Amaranthus cruentus L.*) DAN EKSTRAK DAUN SELADA (*Lactuca sativa L.*) BESERTA BENTUK TUNGGALNYA DENGAN METODE DPPH

(*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Tujuan penulisan karya tulis ilmiah ini yaitu sebagai persyaratan untuk menyelesaikan Program Pendidikan Diploma III Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada :

1. Hartono, M.Si., Apt, selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
2. Iwan Setiawan, M.Sc., Apt, selaku Ketua Program Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk membuat karya tulis ilmiah ini.
3. Drs. Suharyanto, M.Si selaku Dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan karya Tulis Ilmiah ini.
4. Devina Ingrid A, M.Si selaku Dosen penguji yang telah memberikan saran dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
5. Wimpy, M.Pd selaku Dosen penguji yang telah memberikan saran dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

5. Ibu Yohana selaku Asisten Dosen yang telah meberiku bimbingan selama pelaksanaan praktikum.
6. Bapak dan Ibu Dosen serta Staf pengajar Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis.
7. Laboran laboratorium Kimia Analisis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang senantiasa membantu dan menemani selama proses praktikum.
8. Keluargaku yang selalu memberikan cinta kasih sayang, dukungan, doa dan semangat yang luar biasa selama menyusun karya tulis ini.
9. Sahabat-sahabat yang selalu memberi dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan karya tulis ini.
10. Semua pihak yang juga memberikan bantuan kepada penulis dalam rangka menyusun Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan menambah pengetahuan di bidang Farmasi.

Surakarta, 02 Februari 2018

Penulis

INTISARI

Hampir sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan. Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antiradikal adalah daun bayam dan daun selada yang memiliki kandungan flavonoid yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antiradikal DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrilhidrazyl*) dari kombinasi ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada, pada komposisi 1:0, 0:1, 1:2, dan 2:1. Penyarian dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode hasil uji aktivitas senyawa antiradikal DPPH menunjukkan bahwa bentuk kombinasi memiliki aktivitas senyawa antiradikal DPPH yang lebih baik dari bentuk tunggalnya. Nilai IC_{50} kombinasi 1:0, 0:1, 1:2, dan 2:1 berturut-turut adalah 409,7208 ppm, 297,9908 ppm, 269,7271 ppm dan 273,510 ppm.

Kata kunci : Aktivitas Antioksidan, DPPH, Ekstrak Daun Bayam dan Ekstrak Daun Selada, Nilai IC_{50} .

ABSTRACT

Most of the diseases begin with an excessive oxidation reaction in the body. The reactivity of free radicals can be inhibited by antioxidant systems. Plants that can be used as an compound antiradical is spinach leaf and the ettuce have a flavonoid compounds that can be used as antioxidant. This study was conducted to determine antiradical DPPH (1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl) activity of the combination of spinach leaf extract and lettuce extract of in compositio 0: 1, 1: 0, 1: 2, and 2: 1. The methode extraction by maceration with 96% ethanol. The resultsof antiradical DPPH activity test showed that the combination has better than singular. The value of IC₅₀ combination 1: 0 0: 1 1: 2 and 2: 1 are 409,7208 ppm, 297,9908 ppm, 269,7271 ppm, 273,510 ppm, respectively.

Keywords: *Antioxidant Activity, DPPH, spinach leaf extract and lettuce extract*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA	v
INTISARI	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Antioksidan	5
B. Daun Bayam.....	9

	C. Daun Selada.....	11
	D. Ekstraksi.....	13
	E. Uji Aktivitas Anioksidan dengan Metode DPPH.....	16
	F. Spektrofotometri Uv-Vis.....	18
	G. Penelitian Serupa yang Pernah Dilakukan.....	23
	H. Hipotesis.....	24
BAB III	METODE PENELITIAN	25
	A. Desain Penelitian.....	25
	B. Tempat dan Waktu Penelitian	25
	C. Populasi dan Sampel.....	26
	D. Besar Sampel.....	26
	E. Variabel Penelitian.....	27
	F. Kerangka Pikir.....	28
	G. Alur Kerja.....	29
	H. Alat dan Bahan.....	30
	I. Cara Kerja.....	30
	J. Analisa Data.....	36
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	38
	A. Persiapan Sampel.....	38
	B. Uji Aktivitas Antioksidan.....	41

BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	53
	A. Kesimpulan.....	53
	B. Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA		54
LAMPIRAN		56

DAFTAR TABEL

Tabel I. Tingkatan Aktivitas Antioksidan pada Metode DPPH.....	17
Tabel 11. Tahap Penelitian.....	25
Tabel II. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Kental Daun Bayam dan Ekstrak Kental Daun Selada	41
Tabel III. Hasil Uji Skrining Fitokimia.....	42
Table IV. Nilai IC ₅₀ Masing-masing Sampel.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Bayam.....	9
Gambar 2. Daun Selada.....	11
Gambar 3. Komponen-komponen Spektrofotometri UV-Vis.....	21
Gambar 4. Bagan Besar Sampel.....	27
Gambar 5. Bagan Kerangka Pikir.....	28
Gambar 6. Bagan Alur Kerja.....	29
Gambar 7. Uji Kandungan Flavonoid.....	42
Gambar 8. Uji Kandungan Alkaloid.....	43
Gambar 9. Uji Kandungan Tanin.....	44
Gambar 10. Uji Kandungan Vitamin C.....	44
Gambar 11. Spektrum Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH 100 ppm.....	47
Gambar 12. Hubungan Konsentrasi Ekstrak Daun Selada Tunggal (1:0) dengan Persen Inhibisi.....	49
Gambar 13. Hubungan Konsentrasi Ekstrak Daun Bayam Tunggal (1:0) dengan Persen Inhibisi.....	49
Gambar 14. Hubungan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Daun Bayam : Daun Selada (1:2) dengan Persen Inhibisi.....	52
Gambar 15. Hubungan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Daun Bayam : Daun Selada (2:1) dengan Persen Inhibisi.....	50

Gambar 16. Hubungan Konsentrasi Ekstrak Vitamin C dengan Persen 51

Inhibisi.....

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Rendemen.....	56
Lampiran 2. Perhitungan Reagen	57
Lampiran 3. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Tunggal Daun Bayam.....	66
Lampiran 4. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Ekstra Tunggal Daun Selada.....	73
Lampiran 5. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Kombinasi Ekstrak Daun Bayam :	
Daun Selada (1:2).....	80
Lampiran 6. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Kombinasi Ekstrak Daun Bayam :	
Daun Selada (2:1).....	87
Lampiran 7. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Vitamin C.....	94
Lampiran 8. Gambar Proses Praktikum.....	96
Lampiran 9. Gambar hasil <i>operating Time</i>	100

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Di Indonesia kesehatan merupakan masalah yang cukup serius. Banyak penyakit yang dapat disebabkan oleh radikal bebas, dimana hal ini dapat terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Faktor lingkungan memiliki peranan penting dalam menghasilkan radikal bebas. Reaksi oksidasi terjadi setiap saat, ketika kita bernafaspun terjadi reaksi oksidasi. Reaksi ini mecatuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Namun, reaktivitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Komponen antioksidan terdapat di alam secara melimpah, baik dalam sayur-sayuran maupun buah-buahan. Belum banyak orang menyadari hal ini karena belum paham betul apa yang yang dimaksud dengan antioksidan, jenis, kegunaan, dan bahan yang mengandungnya.

Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara terus menerus dibentuk langsung oleh tubuh. Radikal bebas dapat mengakibatkan gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun, dan bahkan mutasi. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu munculnya berbagai penyakit. Radikal bebas bisa terbentuk, misalnya ketika komponen makanan diubah

menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme pangan, selain itu antioksidan juga dapat dimanfaatkan sebagai pengawet pangan. Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan sumber daya alam yang bisa dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan. Salah satu harapan sumber alternatif antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan dan dapat ditemui di Indonesia adalah daun bayam. Daun bayam merupakan salah satu sayuran yang dapat tumbuh liar dan merupakan tanaman yang mudah untuk dijumpai dan digemari banyak masyarakat. Bayam adalah sayuran yang memiliki gizi lengkap bagi penderita anemia. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nurhaeni, dkk. (2014) yang melakukan pengujian terhadap aktivitas antioksidan pada daun bayam menghasilkan nilai IC50 daun bayam sebesar 174,68 ppm dimana dapat diartikan aktivitas antioksidan dalam daun bayam tergolong antioksidan lemah.

Selain daun bayam yang sering dikonsumsi masyarakat tanaman lain yang menjadi alternatif antioksidan alami yang cukup potensial adalah terdapat dalam daun selada (*Lactuca sativa* L.). Daun selada memiliki kandungan senyawa seperti iodium, fosfor, besi, tembaga, kobalt, seng, kalsium, mangan, dan potasium yang dapat berfungsi untuk menjaga daya tahan tubuh serta menetralkan kandungan racun dalam tubuh. Pemanfaatan daun selada yang selama ini masih sangat jarang dikalangan masyarakat dikarenakan ketidaktahuan masyarakat terhadap kandungan antioksidan yang dapat digunakan untuk menangkal radikal bebas. Dimana pada penelitian yang pernah dilakukan oleh Nurhaeni, dkk. (2014) didapatkan hasil nilai IC50 pada daun selada yaitu 87,54 ppm yang termasuk antioksidan yang kuat. Aktivitas antioksidan dari berbagai sumber sayuran pada

umumnya diekstrak dengan pelarut air, etanol, methanol, eter, etil asetat, dan butanol.

Kandungan antioksidan yang dimiliki daun bayam termasuk lemah sedangkan aktivitas antioksidan yang dimiliki daun selada termasuk kuat, maka apabila kedua sayuran tersebut dicampurkan atau dikombinasikan diharapkan dapat mengakibatkan meningkatnya aktivitas antioksidan dari campuran atau kombinasi kedua sayuran tersebut yaitu daun bayam dan daun selada. Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan nilai IC₅₀, semakin rendah nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu

1. Berapa nilai IC50 bentuk tunggal dan kombinasi ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada.
2. Apakah kombinasi ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dari bentuk tunggalnya

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian dari penelitian ini yaitu

1. Mengetahui nilai IC50 dari bentuk tunggal dan kombinasi ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada.
2. Mengetahui nilai IC50 dari kombinasi ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan manfaat dan pengetahuan bahan makanan untuk kebutuhan antioksidan.
2. Memberikan alternatif pemilihan senyawa antioksidan dalam bentuk kombinasi bahan makanan.
3. Memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada yang lebih baik antara bentuk tunggal dengan bentuk kombinasi.

BAB III

Metode Penelitian

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan melakukan uji aktivitas terhadap sampel ekstrak daun bayam dan daun selada sebagai senyawa antioksidan dengan metode DPPH.

B. Tempat dan Waktu

Tempat yang digunakan untuk penelitian adalah Laboratorium Kimia Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Surakarta. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Oktober 2017 sampai bulan Januari 2018.

Tabel 2. Tahap Penelitian

Tahap penelitian	Uraian kegiatan	Bulan ke			
		1	2	3	4
Persiapan	Studi pustaka	√	√		
	Persiapan alat dan bahan		√	√	
Pelaksanaan	Pengumpulan data			√	
Penyelesaian	Analisis data			√	√
	Penyusunan laporan				√

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

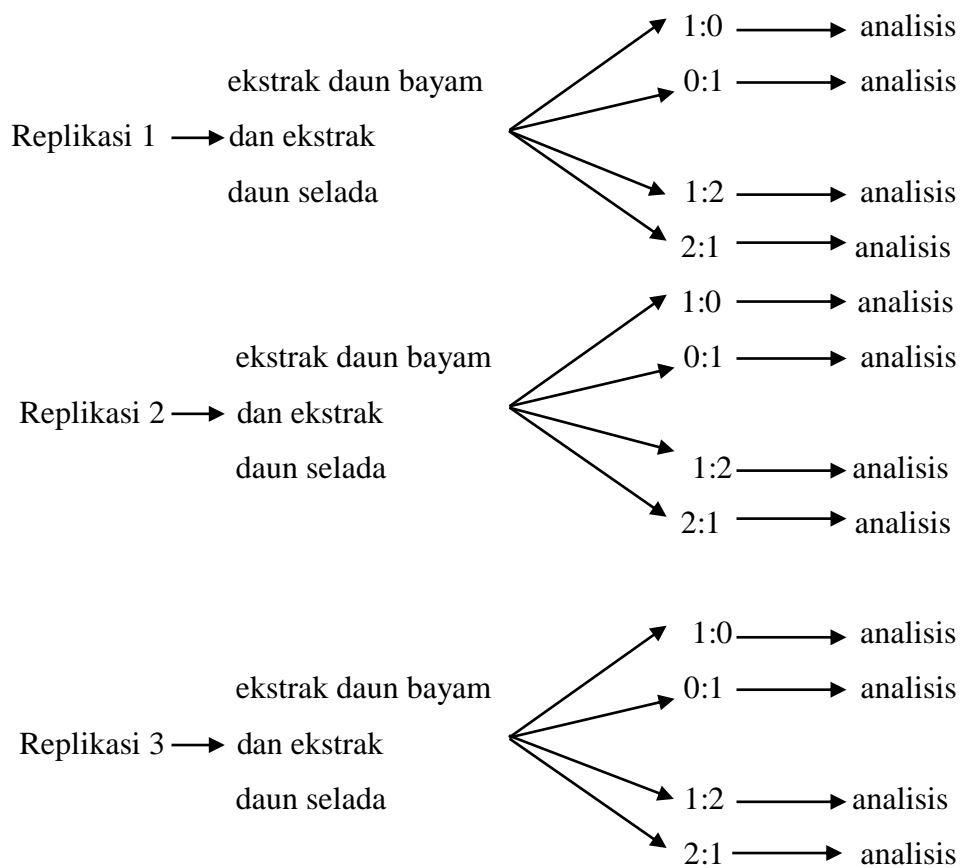
Populasi daun bayam yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Colomadu Boyolali, Jawa Tengah dan daun selada yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari Boyolali, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel daun bayam yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari beberapa petani yang terdapat di daerah Colomadu Boyolali Jawa Tengah dan daun selada yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari desa Selo, Boyolali, Jawa tengah.

D. Besar Sampel

Pada penelitian ini dibutuhkan 100 gram simplisia daun bayam (*Amaranthuscruentus* L.) yang telah dikeringkan dan dihaluskan untuk dimaserasi dengan pelarut etanol 96% hingga diperoleh ekstrak kental, serta perlakuan yang sama dilakukan terhadap 100 gram simplisia daun selada (*Lactuca sativa* L.). Bagan tentang pengerjaan sampel dipaparkan dalam gambar.



Gambar 4. Bagan Besar Sampel

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun bayam dan daun selada.

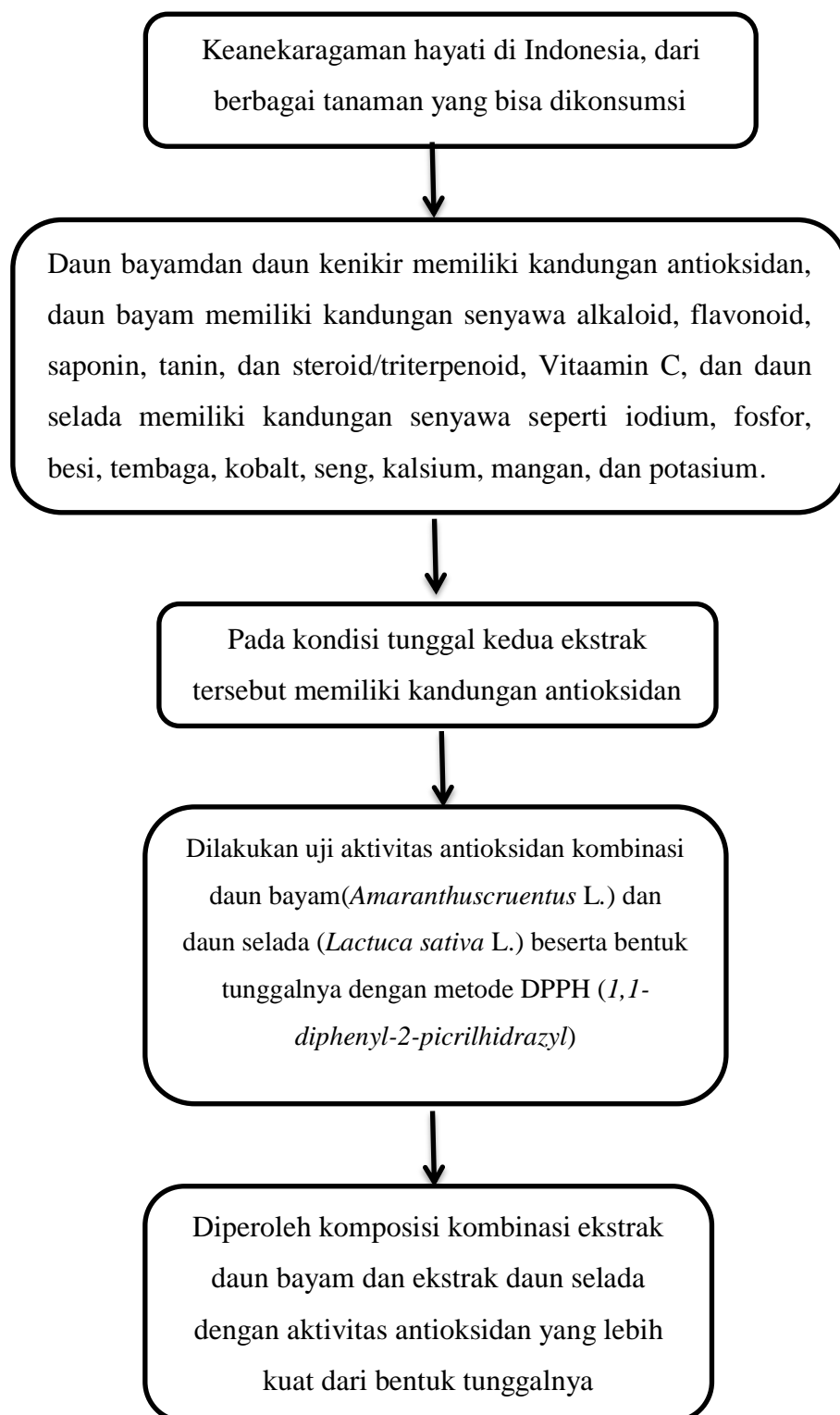
2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

3. Variabel terkontrol

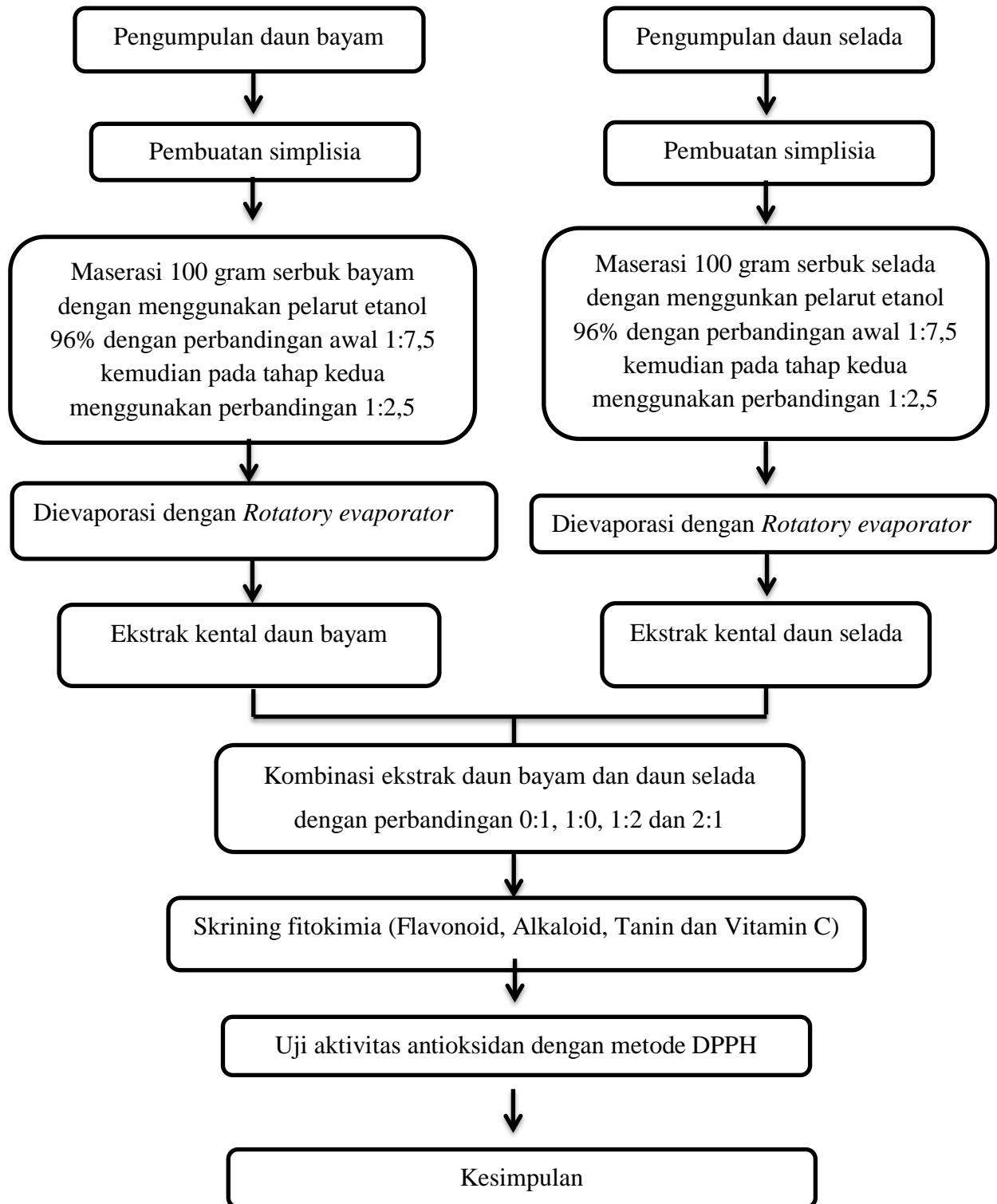
Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah konsentrasi baku induk DPPH 100 ppm dan volume larutan DPPH yang digunakan.

F. Kerangka pikir



Gambar 5. Bagan Kerangka Pikir

G. Alur Kerja



Gambar 6. Bagan Alur Kerja

H. Alat dan Bahan

Alat :

Alat yang digunakan adalah spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu Cooperation UV mini-1240), sepasang kuvet (merk HELMA), neraca analitik (Ohaus, PA214 dengan sensitivitas penimbangan 0,0001 gram dan minimal penimbangan 100,0 mg), *rotary evaporator* (IKA RV 10), blender, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan dalam analisis kimia.

Bahan :

Bahan yang digunakan adalah daun bayam (*Amaranthuscruentus* L.), daun daun selada (*Lactuca sativa* L.), etanol 96%, DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*), metanol, dan vitamin C, dan pereaksi-pereaksi kimia yang digunakan untuk skrining fitokimia seperti: serbuk magnesium, asam klorida 2N, asam klorida pekat, pereaksi Mayer, dan bauchardat LP, aquadest, kalium permanganat (KMnO₄), feri klorida (FeCl₃), metanol, dan perak nitrat (AgNO₃).

I. Cara Kerja

1. Persiapan Bahan

a. Penyiapan serbuk simplisia kering daun bayam dan daun selada

1) Pembuatan simplisia kering daun bayam

Daun bayam yang digunakan adalah daun bayam yang berwarna hijau segar tanpa ada bercak kuning, bintik-bitik putih dan berlubang dari tanaman yang berumur 2 bulan, kemudian buah disortasi terlebih dahulu sebelum dicuci bersih dan dianginkan. Pengeringan dilakukan dengan panas matahari selama

5 hari. Daun bayam yang telah kering kemudian dihancurkan dengan *blender* sehingga didapat tekstur yang halus.

2) Pembuatan simplisi kering daun selada

Daun kenikir disortasi terlebih dahulu sebelum dicuci bersih kemudian daun kenikir dikeringkan dengan panas matahari selama 5 hari. Selada air yang telah kering kemudian dihancurkan dengan *blender* sehingga didapat tekstur yang halus. Daun kenikir yang dipilih adalah berwarna hijau tua atau pada saat tumbuhan menjelang berbunga, karena kandungan senyawa aktifnya akan lebih maksimal dibandingkan daun yang masih muda.

b. Pembuatan ekstrak daun bayam dan daun selada.

Serbuk simplisia daun bayam dan daun selada masing-masing ditimbang secara seksama sebanyak 100 gram, kemudian masing-masing serbuk simplisia dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 750 ml (1:7,5) selama lima hari sambil dilakukan pengadukan setiap hari. Setelah lima hari maserasi dilakukan penyaringan menggunakan kain flanel sehingga dihasilkan filtrat pertama. Hasil saringan yang diperoleh dipisahkan antara filtrat dan residu. Residu pada filtrat pertama dimaserasi kembali dengan pelarut baru (etanol 96%) sebanyak 250 ml (1:2,5) sehingga didapatkan filtrat kedua. Filtrat pertama dan kedua dikumpulkan menjadi satu selanjutnya dipekatkan dalam *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Analisis Rendemen Ekstrak

Hasil rendemen masing-masing ekstrak daun bayam dan daun selada dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{Berat ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \quad (\text{Sani, 2014})$$

3. Uji skrining fitokimia (Lutfia,2012)

a. Uji flavonoid

Ekstrak ditambahkan larutan etanol 96% sebanyak 1 ml, kemudian tambahkan serbuk seng P dan 1 ml asam klorida encer 2N, didiamkan selama 1 menit lalu ditambahkan 5 tetes asam klorida P. Jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terbentuk warna merah intensif hal tersebut menunjukkan adanya flavonoid.

b. Uji alkaloid

Ekstrak ditambah 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air, kemudian dipanaskan pada penangas air (60⁰C) selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Tambahkan 2 tetes Mayer LP, apabila terjadi endapan putih atau kuning yang larut dalam metanol P maka menunjukkan adanya alkaloid.

c. Uji tanin

Ekstrak ditambah larutan asam klorida 2N, kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 30 menit. Tanin positif jika terjadi perubahan warna merah.

d. Uji Vitamin C (Jubahar dkk, 2015)

Ekstrak dilarutkan dalam aquadest kemudian direaksikan didalam tabung reaksi dengan larutan kalium permanganat (KMnO_4) dalam suasana dngin warna KMnO_4 hilang dan lama-lama menjadi coklat.

e. **Pembuatan larutan DPPH**

a. Pembuatan larutan baku induk DPPH 1000 ppm

Pembuatan larutan DPPH 1000 ppm dilakukan dengan cara ditimbang secara seksama sebanyak 10,0 mg DPPH dan dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 10,0 mL hingga tanda batas.

b. Pembuatan larutan baku kerja DPPH 100 ppm

Larutan DPPH 1000 ppm dipipet 1,0 mL, kemudian ditambah etanol 96% dalam labu ukur volume 10 mL hingga tanda batas.

c. Penentuan *operating time (OT)*

Pipet 3,0 mL sampel ditambah 2,0 mL larutan DPPH 100 ppm, serapan larutan tersebut diukur pada menit ke-1 hingga diperoleh absorbansi yang stabil pada panjang gelombang maksimum.

d. Scanning panjang gelombang maksimum larutan kontrol DPPH 100 ppm.

Larutan DPPH 100 ppm dalam etanol 96% diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Visibel pada rentang panjang gelombang 450-600 nm. Amati kurva hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi, tentukan panjang gelombang maksimumnya.

f. Pembuatan larutan sampel induk dan sampel kerja ekstrak

- a. Pembuatan larutan sampel induk ekstrak daun bayam 1000 ppm

Timbang secara seksama ekstrak 50,0 mg, ditambah etanol 96% pada labu ukur 50,0 mL hingga tanda batas.

- b. Pembuatan larutan sampel kerja ekstrak daun bayam dengan konsentrasi 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, 350 ppm, 400 ppm, dan 450 ppm

Pipet masing-masing 2 mL, 2,5 mL, 3 mL, 3,5 mL, 4 mL dan 4,5 mL larutan sampel induk ekstrak daun bayam 1000 ppm dalam labu ukur 10,0 mL dengan ditambah etanol 96% hingga tanda batas.

- c. Pembuatan larutan sampel induk ekstrak daun selada 1000 ppm

Timbang secara seksama ekstrak 50,0 mg ditambah etanol 96% pada labu ukur 50,0 mL hingga tanda batas.

- e. Pembuatan larutan sampel kerja ekstrak daun selada dengan konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm 350 ppm.

Pipet masing-masing 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, 2,5 mL, 3 mL, dan 3,5 mL larutan sampel induk ekstrak daun selada 1000 ppm dalam labu ukur 10,0 mL dengan ditambah etanol 96% hingga tanda batas.

g. Pengukuran aktivitas antioksidan

- a. Pembuatan larutan kontrol

Pipet 3,0 mL etanol 96% ditambah 2,0 mL larutan DPPH 100 ppm, campuran dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

b. Pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C

Timbang 10,0 mg vitamin C, larutkan dengan 100,0 mL etanol 96% hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian lakukan pengenceran hingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, dan 8 ppm. Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet 3,0 mL dan ditambah 2,0 mL larutan DPPH 100 ppm, campuran dimasukkan kedalam kuvet lalu diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada panjang gelombang maksimum.

c. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun bayam

Pipet 3,0 mL larutan uji dengan berbagai konsentrasi ditambahkan 2,0 mL DPPH 100 ppm. Ukur absorbansi saat tercapai OT pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan antara konsentrasi dan % inhibisi.

d. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun selada

Pipet 3,0 mL larutan uji dengan berbagai konsentrasi ditambah 2,0 mL DPPH 100 ppm. Ukur absorbansi saat tercapai OT pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan antara konsentrasi dan % inhibisi.

e. Pengukuran aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun bayam dan daun selada dengan perbandingan (1:2) dan (2:1)

Pada perbandingan 1:2 ditimbang sebanyak 100,0 mg campuran daun bayam dan daun selada dimana dari perbandingan tersebut didapatkan hasil penimbangan serbuk simplisia daun bayam yaitu 33,33 gram dan serbuk

simplisia daun selada yaitu 66,66 gram. Pada perbandingan 2:1 ditimbang sebanyak 100,0 mg ekstrak daun bayam dan daun selada dimana dari perbandingan tersebut didapatkan hasil penimbangan serbuk simplisia daun bayam yaitu 66,66 gram dan serbuk simplisia daun selada yaitu 33,333 gram dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm. Untuk penentuan aktivitas antioksidan setiap konsentrasi dipipet 3,0 mL ditambah 2,0 mL larutan DPPH 100 ppm. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet, diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linear hubungan antara konsentrasi dan % inhibisi.

J. Analisis Data

1. Penentuan aktivitas antioksidan

Pengujian penangkapan radikal bebas berbagai kombinasi ekstrak buah daun bayam dan daun selada yaitu 1:0, 0:1, 1:2, dan 2:1 dengan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*). Kemampuan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*) dinyatakan dengan % inhibisi. Semakin besar % inhibisi maka potensi aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*) semakin besar. Hasil uji penangkapan radikal bebas dengan metode DPPH pada ekstrak daun bayam (*Amaranthuscruentus* L.) dan daun selada (*Lactuca sativa* L.) dipaparkan sebagai hasil penelitian, sehingga didapatkan jumlah persen penangkapan

antioksidan. Besarnya aktivitas penangkapan radikal bebas dihitung dengan rumus :(Hardiyanthi, 2015)

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

2. Penetapan nilai IC50

Dilakukan perhitungan IC50 yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak uji antioksidan yang didapat sebesar 50% melalui persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa sampel uji (X) dengan aktivitas antioksidan rata-rata (Y) dari segi replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC50 ya maka senyawa uji tersebut mempunyai aktivitas sebagai penangkap radikal yang baik.

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

IC50 dapat dituliskan dengan cara mengubah nilai $y = 50$

$$Y = Bx + A$$

$$50 = Bx + A$$

$$X = \frac{50 - A}{B} = IC50$$

Keterangan :

X : konsentrasi sampel

Y : persen inhibisi

B : Slope

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu :

1. Nilai IC_{50} yang didapat dari uji aktivitas ekstrak daun bayam dan daun selada dalam bentuk tunggal maupun kombinasi dengan masing-masing 3 kali replikasi adalah ekstrak daun bayam tunggal (1:0) sebesar 409,7208 ppm, ekstrak daun selada tunggal (0:1) sebesar 297,9908 ppm, kombinasi ekstrak daun bayam : daun selada (1:2) sebesar 269,7271 ppm, dan kombinasi ekstrak daun bayam : daun selada (2:1) sebesar 273,510 ppm.
2. Kombinasi ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada dengan perbandingan 1 : 2 adalah kombinasi yang memiliki nilai IC_{50} sebagai senyawa antiradikal DPPH yang terkuat.
3. Kombinasi ekstrak daun bayam dan ekstrak daun selada memiliki aktivitas antiradikal DPPH yang lebih baik dari bentuk tunggalnya.

B. Saran

Pada penelitian berikutnya ekstrak daun bayam dan daun selada dapat digunakan dalam uji aktivitas penentuan antioksidan dengan metode penentuan antioksidan yang berbeda, atau sampel yang berbeda dan jenis pelarut yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, R., Yaya, S., dan Muhamad, N, 2010, Penetapan Bionutrien KPD Pada Tanaman Selada Keriting (*Lactuca sativa var. Crispa*), *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, **1**, 1, 73-79.
- Belleville-Nabet, F, 1996, Zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan dalam Sistem Biologis, Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan : Reaksi Biomolekuler, Dampak Terhadap Kesehatan dan Penangkalan, Pusat Studi Pangan dan Gizi dengan Kedutaan besar Prancis di Jakarta
- Dachriyanus, 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Cetakan I, 3, Andalas University Press, Padang.
- Day,R.A dan A.L Underwood, 2002, *Analisis Kimia Kuantitatif*, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Dyahariesti Niken, 2016, Efektivitas Ekkstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor L*) Sebagai Antioksidan Dan Penurunan Kadar Gula Darah, *Skripsi*, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudi Waluyo
- Edwin., Ika Reskia., Jeni Rustan., Nurul Fajaryanti., Ayu Istiqomah., Armala Sahid, 2013, Laporan Lengkap Spektrofotometri Uv-Vis, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Hassanudin, Makasar
- Gandjar,G.H., dan Rohman A, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Hardiyanthi Febby, 2015, Pemanfaat Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dalam *Sediaan Hand and Body Cream*, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Jubahar Junuary., Yuliana Astuti., Netty Suharti, Penetapan Kadar Vitamin C Dari Buah Cabe Rawit (*Capsicum frutescens L.*) Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), *Jurnal Farmasi Higea*, **7**, 2, 208-217.
- Khopkar, S.M., 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press, Jakarta.
- Kurniasih, N., Mimin,K., Nurhasanah., Riska, P., Riza, W, 2015, Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata Linn*), Daun Binahong (*Anredera cordifolia (ten) steenis*) dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai Antioksidan Pencegah Kanker, **9**, 1, 162-184.

- Lutfi Dwi Ratri, 2012, Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Brokoli (*Brassica oleracea L.cv. group Broccoli*), *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Bandung, Bandung.
- Molyneux, P, 2004, The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity, *Journal Science Of Technology*, **2**, 26, 211-219.
- Nurhaeni Farisya., Trilestari., Subagus Wahyuono³., Abdul Rohman, 2014, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Berbagai Jenis Sayuran Serta Penentuan Kandungan Fenolik Dan Flavonoid Totalnya, *Jurnal Media Farmasi*, **11**, 2, 167-178.
- Nurhidayah Siska Ayu, 2016, Pengaruh Mikoriza “Plus” Terhadap Infeksi Akar Serapan Fosfat dan Pertumbuhan Tanaman Selada (*Lactuca sativa*) Serta Pemanfaatannya Sebagai Buku Ilmiah Populer, *Skripsi*, Fakultas Keguruan dan Pendidikan Universitas Jember.
- Priatna, E. Muharam dan Sri Hadiyanti, 2013, Uji Aktivitas Hipoglikemik Ekstrak Etanol Bayam (*Amaranthus cruentus L.*) Pada Mencit Putih Jantan Galur Swiss-Webster, *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, **9**,1, 49-56
- Purba., Eggers, T., Susan, E., 2008. Flavonoid Content and Antioksidan Activity of Kharcai-dum (*Kaemferia parviflora*) Wine. *Journal of Science Technology*.
- Rahmi Hayatul, 2017, Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-Buahan di Indonesia, **1**, 2, 34-38.
- Sani, R., Fithri, C., Ria, D., dan Jaya, M., 2014, Analisis Rendeen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut Tetraselmis chuii, **2**, 2, 121-126.
- Voight Rudolf, 1984, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Zuhra, C., Juliati Br., dan Herlince S., 2008, Aktitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus (L) Merr.*), *Jurnal Biologi Sumatera*, **3**, 1, 7-10.