

**UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium Sativum*) DAN EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)
SEBAGAI SENYAWA ANTIRADIKAL DPPH
(1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl)**



Karya Tulis Ilmiah

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk
Menyelesaikan Program Pendidikan DIII Farmasi**

Oleh :

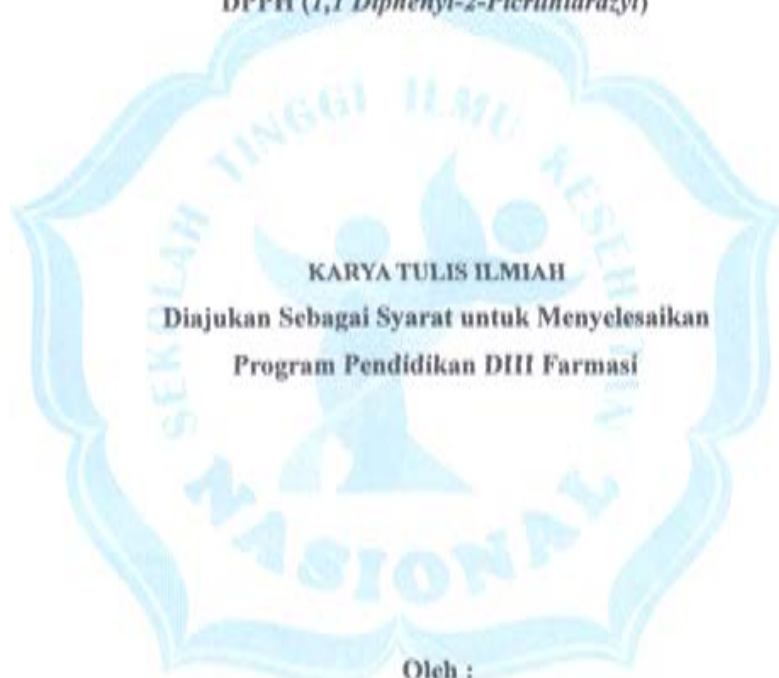
Priskilla Rachma Widya Putri

NIM : 14466 FA

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK BAWANG PUTIH
(*Allium Sativum* Linn.) DAN EKSTRAK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) SEBAGAI SENYAWA
ANTIRADIKAL DPPH (1,1 Diphenyl-2-Picrilhidrazyl)**

**TEST COMBINATION ACTIVITY GARLIC EXTRACT (*Allium Sativum*
Linn.) AND LEAF KENIKIR EXTRACT (*Cosmos caudatus* Kunth.)
AS COMPOUND ANTI RADICAL
DPPH (1,1 Diphenyl-2-Picrilhidrazyl)**



Oleh :
Priskilla Rachma Widya Putri
NIM : 14466 FA

PRODI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL

2017

Karya Tulis Ilmiah

**UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium Sativum*) DAN EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)
SEBAGAI SENYAWA ANTIRADIKAL DPPH
(1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazil)**

Diajukan oleh :

Priskilla Rachma Widya Putri

NIM : 14466 FA

Telah disetujui oleh

Pembimbing


(C.E. Dhurhaning Sifa, M.Sc.,)

Tanggal 30 Januari 2017

KARYA TULIS ILMIAH

UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium sativum* Linn.) DAN EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmosus caudatus* Kunth.) SEBAGAI SENYAWA ANTIRADIKAL DPPH
(1,1-Diphenyl-2-Picrilhidrazyl)

Disusun oleh :
Priskilla Rachma Widya Putri
NIM. 14466 FA

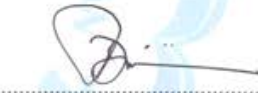
Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada tanggal 16 Februari 2017

Tim Penguji

Devina Ingrid A, M.Si

(Ketua)



Adi Yugatama, M.Sc., Apt

(Anggota)



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

(Anggota)



Menyetujui,
Pembimbing Utama



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

Mengetahui,
**Ketua Program Studi
DIII Farmasi**



Iwan Setiawan, M.Sc., Apt

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini penulis persembahkan untuk :

Ibuku tercinta Debora Bhernadeta yang selalu memberikan semangat dan kasih sayang yang tiada tara.

Sahabat-sahabatku tersayang yang tak bisa ku sebutkan satu per satu, terimakasih karena selalu menemani dan membantuku serta selalu memberikan semangat untuk ku.

“Harta yang tak pernah habis adalah Ilmu pengetahuan dan ilmu yang tak ternilai adalah pendidikan”

“Tetaplah merasa bodoh, agar kita belajar. Tetaplah merasa lapar, agar kita berusaha”

Steve Jobs.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena kasih karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini yang berjudul “**UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium Sativum*) DAN EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) SEBAGAI SENYAWA ANTIRADIKAL DPPH (*1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl*)**”. Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program DIII Farmasi di STIKES Nasional. Karya Tulis Ilmiah ini terselesaikan atas bantuan semua pihak, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Hartono, M.Si., Apt., selaku Ketua STIKES Nasional.
2. C.E. Dhurhanian, S.Farm., M.Sc., selaku pembimbing yang telah membimbing penulis hingga mampu menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Tim penguji Karya Tulis Ilmiah.
4. Kurniawan, A.Md., selaku instruktur penelitian yang telah membimbing dan membantu dalam proses penelitian.
5. Pak Johan, pak Bowo, dan pak Fauzi selaku laboran yang telah membantu menyelesaikan karya tulis ini.
6. Ibu Debora selaku orang tua penulis yang selalu memberikan do'a, kasih sayang, dan dukungan.
7. Sahabat ku Joshua Djohan yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan do'a yang terbaik.

8. Teman-teman angkatan 2014 yang telah berjuang bersama-sama untuk menempuh DIII Farmasi di STIKES Nasional
9. Sahabat-sahabat dan keluarga penulis yang selalu memberikan dukungan maupun do'a.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam proses menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi pembaca.

Surakarta, 25 Januari 2017

Penulis

INTISARI

Penelitian medis telah menunjukkan bahwa radikal bebas ikut terlibat dalam berbagai proses patologis. Hampir sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan. Antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat. Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antiradikal adalah bawang putih dan daun kenikir yang memiliki kandungan flavonoid yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antiradikal DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dari kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir, pada komposisi 0:1, 1:0, 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 101,7396 ppm, 47,4365 ppm, 34,5455 ppm, 42,1154 ppm.

Kata kunci: antioksidan, DPPH, ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir, IC_{50} .

ABSTRACT

Medical studies have shown that free radicals are involved in a variety of pathological processes. Most of the diseases begin with an excessive oxidation reaction in the body. The reactivity of free radicals can be inhibited by antioxidant systems. Antioxidants is an inhibitor used to inhibit autooxidation by scavenge free radicals and highly reactive molecules than damage cells will be inhibited. Plants that can be used as an compound antiradical is garlic and the leaves of marigolds 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 garlic extract and extract of leaves of marigolds in compotition 0: 1, 1: 0, 1: 2, and 2: 1. The methode extraction is done 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 101.7396 ppm, 47.4365 ppm, 34.5455 ppm, 42.1154 ppm, respectively.

Keywords: antioxidant, DPPH, garlic extract and leaf extract of marigolds, IC₅₀.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA	v
INTISARI	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Radikal Bebas.....	6
B. Antioksidan.....	7
C. Bawang Putih.....	10
D. Kenikir.....	12

E. Maserasi.....	14
F. Metode Uji Aktivitas Antiradikal dengan Senyawa DPPH	15
G. Spektrofotometri Uv-Vis.....	17
H. Penelitian Serupa yang Pernah Dilakukan.....	18
I. Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Desain Penelitian.....	20
B. Tempat dan Waktu Penelitian	20
C. Populasi dan Sampel.....	20
D. Besar Sampel.....	20
E. Variabel Penelitian.....	21
F. Kerangka Pikir.....	22
G. Alur Kerja.....	23
H. Alat dan Bahan.....	24
I. Cara Kerja.....	24
J. Analisa Data.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
A. Pembuatan Simplisia Kering Bawang Putih dan Daun Kenikir.....	31
B. Persiapan Sampel.....	
C. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum.....	34
D. Penetapan Aktivitas Antioksidan.....	35
E. Analisa Data.....	41

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	44
A. Kesimpulan.....	44
B. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel I. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Bawang Putih dan Daun Kenikir	35
Tabel II. Nilai IC ₅₀ Masing-Masing Sampel	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Bawang Putih.....	11
Gambar 2. Tanaman Kenikir.....	13
Gambar 3. Struktur DPPH.....	15
Gambar 4. Bagan Analisis Ekstraksi Kombinasi Bawang Putih dan Daun Kenikir Dalam Berbagai Perbandingan.....	20
Gambar 5. Bagan Kerangka Pikir.....	22
Gambar 6. Bagan Alur Kerja.....	23
Gambar 7. Spektrum Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum.....	35
Gambar 8. Reaksi Penangkapan Radikal Bebas Oleh DPPH.....	36
Gambar 9. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Bawang Putih Tunggal dengan Persen Inhibisi.....	37
Gambar 10. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Daun Kenikir Tunggal dengan Persen Inhibisi.....	38
Gambar 11. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Bawang Putih : Daun Kenikir (1:2) dengan Persen Inhibisi.....	38
Gambar 12. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Bawang Putih : Daun Kenikir (2:1) dengan Persen Inhibisi.....	38
Gambar 13. Hubungan antara Konsentrasi Vitamin C dengan Persen Inhibisi.....	40
Gambar 14. Gambar Sampel Bawang Putih.....	86
Gambar 15. Gambar Sampel Daun Kenikir.....	86
Gambar 16. Gambar Sampel Ekstrak Bawang Putih.....	86

Gambar 17. Gambar Sampel Ekstrak Daun Kenikir.....	87
Gambar 18. Gambar Instrumen Spektrofotometer Uv-Vis.....	87

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Randemen Ekstrak Daun Kenikir dan Ekstrak Bawang Putih.....	49
Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Reagen	51
Lampiran 3. Perhitungan Nilai IC_{50} Ekstrak Bawang Putih Tunggal.....	52
Lampiran 4. Perhitungan Nilai IC_{50} Ekstrak Daun Kenikir Tunggal.....	58
Lampiran 5. Perhitungan Nilai IC_{50} Kombinasi Ekstrak Bawang Putih : Daun Kenikir Perbandingan 1:2	64
Lampiran 6. Perhitungan Nilai IC_{50} Kombinasi Ekstrak Bawang Putih : Daun Kenikir Perbandingan 2:1.....	70
Lampiran 7. Perhitungan Nilai IC_{50} Vitamin C.....	76
Lampiran 8. Perhitungan Analisis <i>One-Way ANOVA</i>	85
Lampiran 9. Gambar Sampel yang digunakan.....	87

BAB I.

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penelitian medis telah menunjukkan bahwa radikal bebas ikut terlibat dalam berbagai proses patologis. Hampir sebagian besar penyakit yang menyerang manusia diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Karena itu, harus disadari bahwa oksigen merupakan sesuatu yang paraoksidal dalam kehidupan. Oksidasi yang disebabkan oleh radikal dapat menyebabkan disintegrasi membran sel, kerusakan membran protein serta mutasi DNA, yang selanjutnya dapat memulai atau menyebarkan berbagai penyakit seperti kanker, penyakit hati, dan penyakit kardiovaskuler.

Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang dapat dijadikan sebagai pelengkap dalam sistem kekebalan tubuh manusia. Antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi, yakni dapat menunda, memperlambat dan mencegah reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid. Antioksidan bekerja dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat.

Cosmos caudatus Kunth. atau yang lebih dikenal dengan nama kenikir merupakan salah satu sayuran yang sering dikonsumsi sebagai lalapan. Secara tradisional daun kenikir berkhasiat sebagai penambah nafsu makan, penguat tulang, lemah lambung dan pengusir serangga. Penelitian yang dilakukan oleh Nurhaeni.,dkk (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun kenikir

mengandung senyawa yang memiliki daya antioksidan kuat, dengan harga IC_{50} sebesar 19,43 ppm. Abas, dkk (2003) menyebutkan bahwa ekstrak metanolik daun kenikir mengandung flavonoid dan glikosida kuersetin.

Allium sativum Linn. atau yang lebih dikenal dengan nama bawang putih sudah banyak teruji khasiatnya sebagai senyawa antioksidan dalam hal menanggulangi kanker. Tanaman ini juga memiliki banyak manfaat yaitu sebagai antiradang, menghentikan pendarahan, dan antitumor. Selain itu, bawang putih sudah digunakan sejak zaman dahulu terutama sebagai bahan dasar segala jenis masakan atau sebagai bumbu dapur dengan memanfaatkan bagian umbinya, agar cita rasa dari masakan lebih lezat. Penelitian yang dilakukan oleh Amin (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% bawang putih mengandung senyawa yang memiliki antioksidan dengan kategori kuat, dengan harga IC_{50} sebesar 60,2099 ppm. Bawang putih banyak mengandung senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon dan turunannya seperti elecanacin, eleutherin, eleutherol, eleutherinon (Alves *et al.*, 2003, Hara *et a.*, 2008; Nielsen dan Wege, 2006).

Pada beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*) bentuk kombinasi lebih efektif dari bentuk tunggal dari masing-masing bahan. Pada penelitian ini akan dilakukan uji efektivitas penangkapan radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*) dari kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* Linn.) dan ekstrak daun kenikir (*Cosmosus caudatus* Kunth). Pada penelitian dipilih bawang putih karena bawang putih karena mengandung senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan serta digunakan sebagai bumbu utama dalam

pembuatan masakan. Daun kenikir dipilih karena memiliki potensi antioksidan sangat kuat. Dasar penelitian juga dilihat dari nilai nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% bawang putih sebesar 60,2099 ppm dan nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% daun kenikir 19,43 ppm, diharapkan pada penelitian kombinasi bisa mendapatkan hasil penangkapan radikal bebas dengan IC_{50} yang lebih baik dari bentuk tunggal.

Aktivitas antioksidan tidak dapat diukur secara langsung, melainkan melalui efek antioksidan dalam mengontrol proses oksidasi. Banyak metode yang bisa digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Pada pengukuran aktivitas antioksidan perlu diperhatikan sumber radikal bebas dan substrat. Untuk mengatasi masalah ini dapat digunakan beberapa metode pengukuran aktivitas antioksidan untuk mengevaluasi efek dari antioksidan, salah satunya menurut Molyneux (2004) yaitu menggunakan metode DPPH(*1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl*). DPPH(*1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl*) merupakan suatu radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Delokalisasi elektron bebas ini mengakibatkan terbentuknya warna ungu pada larutan DPPH(*1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl*) sehingga bisa diukur absorbansinya pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Prinsip metode DPPH(*1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl*) adalah ketika larutan DPPH(*1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl*) dicampur dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, maka warna ungu dari larutan akan hilang seiring dengan tereduksinya DPPH(*1,1 diphenyl-2-Picrilhidrazyl*).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk meneliti kemampuan beberapa jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai senyawa antioksidan. Tanaman yang

mengandung antioksidan salah satunya yaitu ekstrak bawang putih (*Allium sativum* Linn.) dimana memiliki IC_{50} yang tergolong sangat kuat untuk ekstrak etanol 96% bawang putih (Amin, 2015). Selain itu menurut Nurhaeni (2014) ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) memiliki nilai IC_{50} yang tergolong sangat kuat untuk ekstrak etanol 96% daun kenikir.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Berapa nilai IC_{50} dari ekstrak etanol 96% bawang putih dan ekstrak etanol 96% daun kenikir dalam bentuk tunggal dan kombinasi ?
2. Kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir manakah yang memiliki nilai IC_{50} terkuat ?
3. Apakah kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir memiliki aktivitas antiradikal DPPH yang lebih baik dari bentuk tunggalnya ?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui nilai IC_{50} dari ekstrak etanol 96% bawang putih dan ekstrak etanol 96% daun kenikir dalam bentuk tunggal dan kombinasi.
2. Mengetahui kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir yang memiliki nilai IC_{50} terkuat.
3. Mengetahui aktivitas antiradikal DPPH yang lebih baik antara kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir dengan bentuk tunggalnya.

D. Manfaat Penelitian

Adanya penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat, antara lain:

1. Memberikan pengetahuan dalam memanfaatkan bahan makanan untuk kebutuhan antioksidan.
2. Memberikan alternatif pemilihan senyawa antioksidan alami dalam bentuk kombinasi bahan makanan dengan peralatan yang sederhana dan ekonomis.
3. Memberikan informasi mengenai aktivitas antiradikal DPPH yang lebih baik antara kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir sebagai senyawa antioksidan dengan bentuk tunggalnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan melakukan uji efektivitas terhadap sampel ekstrak bawang putih (*Allium Sativum* Linn.) dan ekstrak daun kenikir (*Comosus caudatus* Kunth.) sebagai senyawa antiradikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*) pada berbagai kombinasi perbandingan.

B. Tempat dan Waktu

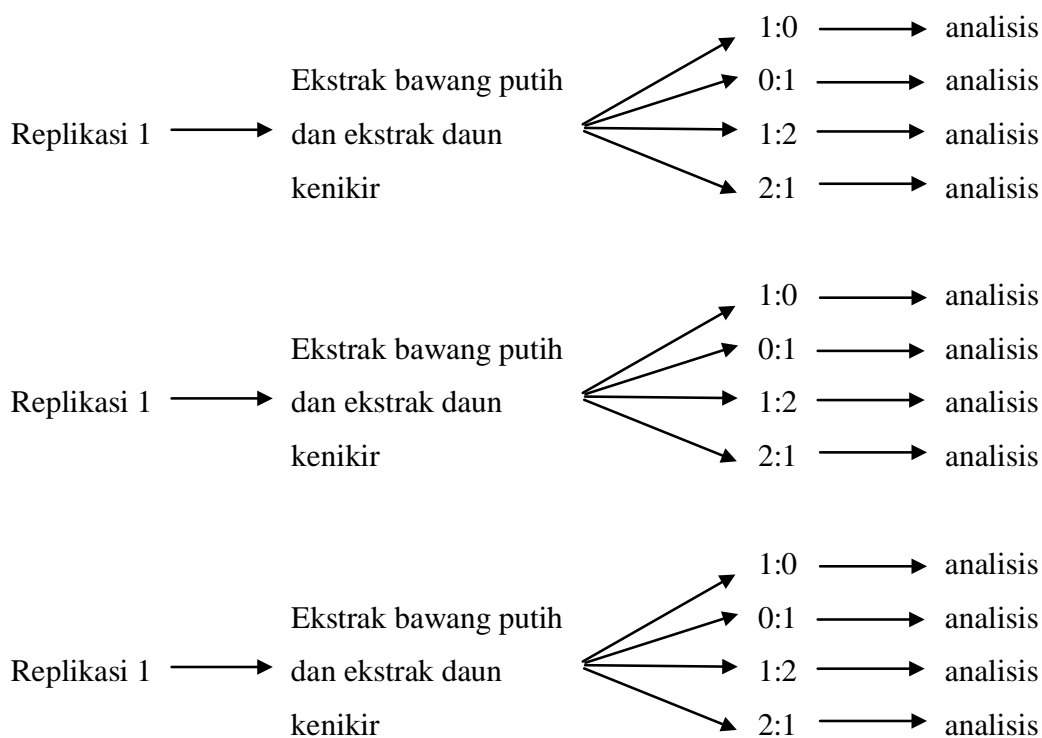
Tempat yang digunakan untuk penelitian adalah Laboratorium Kimia Analisis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan November 2016 sampai Januari 2017.

C. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah bawang putih dan daun kenikir yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar. Sampel pada penelitian ini adalah bawang putih dan daun kenikir yang diambil secara acak dari tiga petani bawang putih dan daun kenikir yang berada di daerah Tawangmangu, Karanganyar.

D. Besar Sampel

Pada masing-masing ekstraksi, bobot serbuk bawang putih dan daun kenikir yang diperlukan yaitu timbang seksama 100 gram. Gambaran tentang total pengerjaan sampel dipaparkan dalam gambar 4.



Gambar 4. Bagan analisis ekstraksi kombinasi ekstrak bawang putih dan daun kenikir dalam berbagai perbandingan.

E. Variabel Penelitian

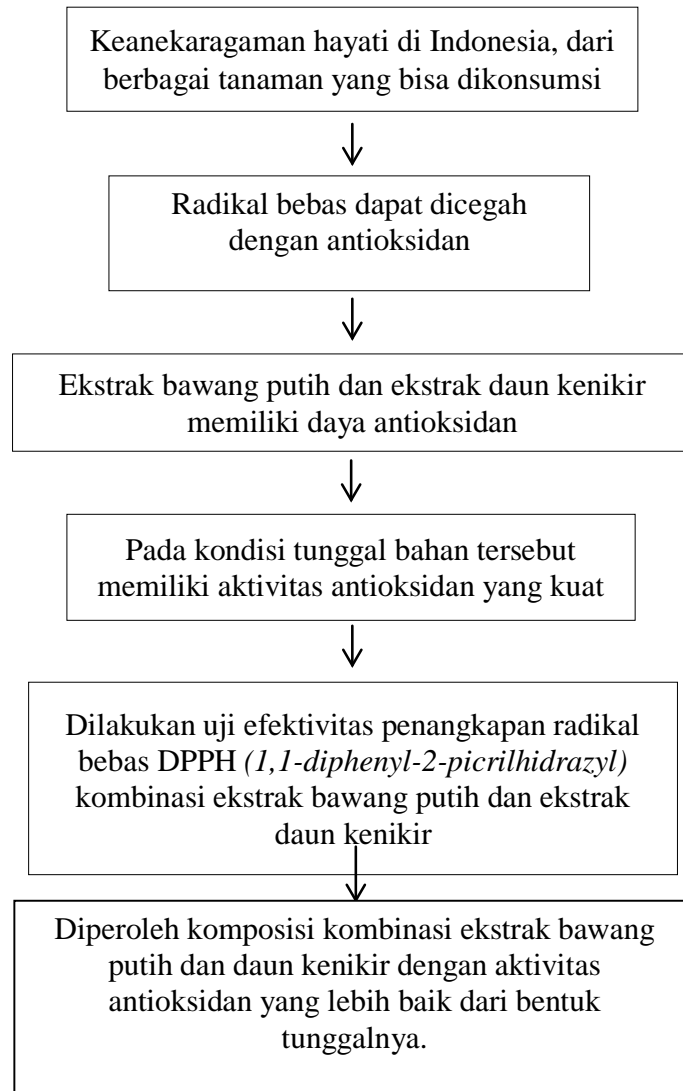
1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir.

2. Variabel terikat

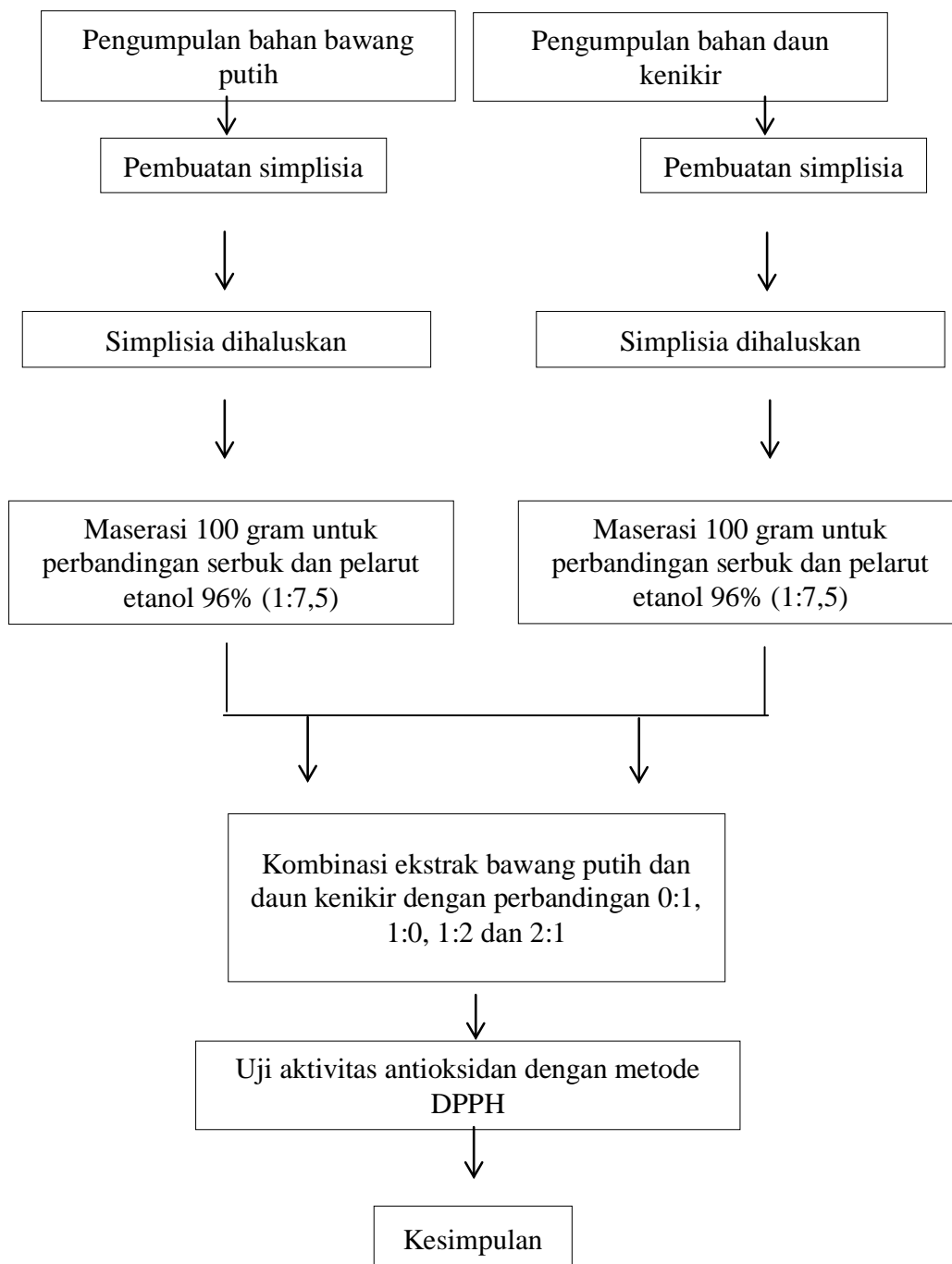
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH(*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*).

F. Kerangka Pikir



Gambar 5. Bagan Kerangka Pikir

G. Alur Kerja



Gambar 6. Bagan Alur Kerja

H. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah bejana maserasi, spektrofotometer (Shimadzu Cooperation W-mini-1240,220-240 Serial No A 10934502629), neraca analitik (Ohaus, EP214 dengan sensitivitas penimbangan 0,0001 gram dan minimal penimbangan 100,0 mg), seperangkat alat gelas (merk IWAKI Pyrex), sepasang kuvet (merk HELMA), seperangkat alat *rotary evaporator* (IKA HV 10), dan alat-alat gelas yang lazim digunakan dalam kimia analisis.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah bawang putih (*Allium sativum* L) dengan daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), etanol 70%, etanol 96%, akuades, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*) *pro-analysis*.

I. Cara Kerja

1. Penyiapan sampel bawang putih dan daun kenikir

a. Penyiapan serbuk bawang putih dan daun kenikir

Bawang putih dan daun kenikir segar disortasi dan dicuci terlebih dahulu. Kemudian dilakukan tahap pembuatan simplisia dengan cara bawang putih dan daun kenikir dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam beberapa hari hingga kering. Setelah didapatkan simplisia kering kemudian dihaluskan menggunakan blender.

b. Ekstraksi Sampel (Ernawati, 2013)

Serbuk simplisia bawang putih dan daun kenikir masing-masing ditimbang secara seksama sebanyak 100 gram kemudian dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 7,5 kalinya selama lima hari sambil dilakukan pengadukan tiap harinya. Kemudian dilakukan pengulangan maserasi sebanyak 2 kali. Maserat yang didapatkan disaring dengan kain flanel, kemudian maserat digabung dengan maserat hasil sebelumnya selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* yang diatur dengan kecepatan putaran 125 rpm dengan suhu 50°C, hingga diperoleh ekstrak kental bawang putih dan daun kenikir.

2. Pembuatan larutan DPPH

a. Pembuatan larutan baku induk DPPH 100 ppm.

Pembuatan larutan DPPH 100 ppm dengan cara ditimbang sebanyak 10,0 mg DPPH dan dilarutkan dengan etanol 70% hingga 100,0 mL dalam labu ukur.

b. Pembuatan larutan kontrol DPPH 50 ppm.

Larutan DPPH 100 ppm dipipet 5,0 mL kemudian ditambah etanol 70% hingga volume 10,0 mL dalam labu ukur.

3. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan kontrol DPPH 50 ppm.

Diamkan larutan kontrol DPPH 50 ppm selama 30 menit dalam suhu ruang kemudian *scanning* larutan kontrol DPPH 50 ppm dengan

spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 450-600 nm, kemudian tentukan panjang gelombang maksimum dari spektrum yang diperoleh.

4. Pengukuran absorbansi larutan kontrol 50 ppm

Diamkan larutan kontrol DPPH 50 ppm selama 30 menit dalam suhu ruang kemudian ukur absorbansi larutan kontrol DPPH 50 ppm pada panjang gelombang maksimum DPPH.

5. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih

Timbang seksama 100,0 mg ekstrak bawang putih kemudian dilarutkan dengan etanol 70% hingga 100,0 mL. Dipipet 0,8; 0,9; 1,0; 1,1; dan 1,2 mL larutan ekstrak lalu ditambah dengan 5,0 mL larutan DPPH 100 ppm dan etanol 70% hingga volume 10,0 mL diamkan selama 30 menit pada suhu ruang, dengan replikasi 3 kali. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan konsentrasi dan %inhibisi.

6. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak daun kenikir

Timbang seksama 100,0 mg ekstrak daun kenikir kemudian dilarutkan dengan etanol 70% hingga 100,0 mL. Dipipet 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; dan 0,6 mL larutan ekstrak lalu ditambah dengan 5,0 mL larutan DPPH 100 ppm dan etanol 70% hingga volume 10,0 mL, diamkan selama 30 menit pada suhu ruang, dengan replikasi 3 kali. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan konsentrasi dan %inhibisi.

7. Penentuan aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir (1:2)

Timbang seksama campuran ekstrak yang terdiri dari 33,3 mg ekstrak bawang putih dan 66,7 mg ekstrak daun kenikir kemudian dilarutkan dengan etanol 70% hingga 100,0 mL. Dipipet 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; dan 0,4 mL larutan ekstrak lalu ditambah dengan 5,0 mL larutan DPPH 100 ppm dan etanol 70% hingga volume 10,0 mL, diamkan selama 30 menit pada suhu ruang, dengan replikasi 3 kali. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan konsentrasi dan %inhibisi.

8. Penentuan aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir (2:1)

Timbang seksama campuran ekstrak yang terdiri dari 66,7 mg ekstrak bawang putih dan 33,3 mg ekstrak daun kenikir kemudian dilarutkan dengan etanol 70% hingga 100,0 mL. Dipipet 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; dan 0,5 mL larutan ekstrak lalu ditambah dengan 5,0 mL larutan DPPH 100 ppm dan etanol 70% hingga volume 10,0 mL, diamkan selama 30 menit pada suhu ruang, dengan replikasi 3 kali. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan konsentrasi dan %inhibisi.

9. Penentuan aktivitas antioksidan pembanding vitamin C

Timbang seksama sebanyak 10 mg vitamin C kemudian dilarutkan dengan 10,0 mL metanol, hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dari 1000 ppm menjadi 10 ppm yaitu dengan memipet 0,1 ml, kemudian ditambahkan metanol hingga volume 10,0ml. Dipipet masing- masing 0,3, 0,5, 0,7, 0,7, dan 1,1, ditambahkan 5,0 mL larutan DPPH 100 ppm kemudian ditambah etanol 70% hingga volume 10,0 mL dalam labu ukur, diamkan selama 30 menit pada suhu ruang, dengan replikasi 3 kali. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan konsentrasi dan %inhibisi.

J. Analisa Data

1. Penentuan % Inhibisi

Hasil uji penangkapan radikal bebas dengan metode DPPH pada ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dan ekstrak daun kenikir (*Cosmosus caudatus* Kunth) dipaparkan sebagai hasil penelitian, sehingga didapatkan jumlah persen penangkapan antioksidan. Besarnya aktivitas penangkapan radikal bebas dihitung dengan rumus :

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

2. Penetapan Nilai IC₅₀

Dilakukan perhitungan IC₅₀ yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi fraksi dari ekstrak uji yang dapat menangkap radikal bebas

sebesar 50% melalui persamaan garis regresi linier 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 yang lebih baik.

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

IC₅₀ dapat dituliskan dengan cara mengubah nilai y = 50

$$y = Bx + A$$

$$50 = Bx + A$$

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

keterangan : x : konsentrasi sampel

y : Persen inhibisi

A : Absorbansi

B : Slope

3. Analisis statistik One Way ANOVA

Pada penelitian ini digunakan analisis statistik One Way ANOVA yang terdiri dari satu variabel terikat dan satu variabel bebas. Sebelum data dimasukkan ke dalam analisis statistik One way ANOVA maka dilakukan uji Normalitas terlebih dahulu. Dari nilai IC₅₀ bentuk tunggal maupun kombinasi dari ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir yang didapat dari 3 kali replikasi kemudian dianalisis dengan SPSS One Way ANOVA. Jika nilai probabilitas signifikan > 0,05, maka tidak terdapat

perbedaan yang signifikan antara bentuk kombinasi dari bentuk tunggalnya. Jika nilai probabilitas signifikan $< 0,05$, maka terdapat perbedaan yang signifikan antara bentuk kombinasi dari bentuk tunggalnya. Analisis statistik ini digunakan untuk melihat perbedaan hasil antara:

0:1 dengan 1:2 dan 2:1

1:0 dengan 1:2 dan 2:1

Dinyatakan efektif jika bentuk kombinasi memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil secara bermakna dari bentuk tunggalnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu :

1. Nilai IC_{50} yang didapat dari uji aktivitas ekstrak bawang putih dan daun kenikir dalam bentuk tunggal maupun kombinasi dengan masing-masing 3 kali replikasi adalah ekstrak bawang putih tunggal (1:0) sebesar 101,7396 ppm, ekstrak daun kenikir tunggal (0:1) sebesar 47,4365 ppm, kombinasi ekstrak bawang putih : daun kenikir (1:2) sebesar 34,5455 ppm, dan kombinasi ekstrak bawang putih : daun kenikir (2:1) sebesar 42,1154 ppm.
2. Kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir dengan perbandingan 1 : 2 adalah kombinasi yang memiliki nilai IC_{50} sebagai senyawa antiradikal DPPH yang terkuat.
3. Kombinasi ekstrak bawang putih dan ekstrak daun kenikir memiliki aktivitas antiradikal DPPH yang lebih baik dari bentuk tunggalnya.

B. Saran

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

DAFTAR PUSTAKA

- Abas, F., Shaari, K., Lajis, N.H., Israf, D.A., dan Kalsom, Y.U., 2003. *Antioxidative and Radical Scavenging Properties of The Constituents Isolated from Cosmosus caudatus* Kunth., *Nat Prod. Sciences*, **9**(4): 245-248.
- Alifah, S., Thomas, J., Qian, H., 2016. Antioxidant Power of Phytochemicals from *Psidium guajava* Leaf. *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 676-68.
- Alves., Elizabeth, K., David, L., 2003. Antioxidant Activity of Flavonoid Rich Extract of *Allium sativum* Linn., In Vitro, *J.Agric.Food Chem.*, **52**: 5032-5039.
- Amin, S., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum*) Terhadap Radikal Bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl*), *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 124-129.
- Ansel, Howard., 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*, Universitas Indonesia: Jakarta.
- Astuti., 1995. *Kemampuan Vitamin C sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada lanjut Usia*. Jurnal MIPA. Universitas Muhammadiyah Surakarta, 52-60.
- Ernawati., 2013. *Metode Ekstraksi*, Erlangga: Jakarta.
- Esterjati., 2014. *Aktivitas Antioksidan Alami Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (Myrmecodia pendens) dan Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl)*. Skripsi. Akademi Farmasi Nasional Surakarta: Surakarta.
- Fritsch, R.M., 2002. *Evolution, Domesticatio, and Taxonomy. Dalam: Allium Crop Science*, Recent Advances, CAB International.
- Fuzzati, N., Sutarjadi, Dyatmiko, W., Rahman, A., and Hostettmann, K., 1995, *Phenylpropane derivatives from roots of Cosmos caudatus* Kunth, *Phytochemistry*, **39**(2): 409-412
- Gandjar dan Rohman., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Hara, L., Han, J., Stushnoff, C., and Vivanco, J.M., 2008. Antioxidant activity

- and Total Phenolic Content of *Allium sativum* Linn., accessions, *Food Chem.*, 547-550.
- Harborne., JB., 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB: Bandung.
- Hargono, Djoko, 1986. *Sediaan Galenik*, Dirjen POM: Jakarta.
- Kusmiati, A.D.N., Minarti., dan Kardono, L.B.S., 2014. *Penapisan Aktivitas Antibakteri, Antioksidan dan Toksisitas Terhadap Larva Udang Artemia Salina Ekstrak Tumbuhan Asteraceae*, *Abstrak*, Pusat Penelitian Kimia LIPI.
- Molyneux P, 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Journal Science of Technology*.
- Nielsen A.J., dan Wege, 2006. Antioxidant Activities, Total Phenolic, and Flavonoid Content of Ethyl Acetate Extract of Garlic (*Allium sativum* Linn.) and Its Fractions, *Majalah Farmasi Indonesia*, **XVII**: 136-142.
- Nugraha, A, 2008. *Metode Uji Aktivitas Antioksidan*. Erlangga: Jakarta.
- Nurhaeni, F, Trilestari., Wahyuono, S., dan Rohman, A., 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Berbagai Jenis Sayuran Serta Penentuan Kandungan Fenolik Dan Flavonoid Totalnya. *Jurnal Kesehatan Universitas Gadjah Mada*. UGM Press Yogyakarta: Yogyakarta.
- Nurjanah, A., Abdulla, dan Apriand, A., 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Pada Keong Ipong-Ipong (*Fasciolaria salmo*). *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, **XIV**(1), 22-29.
- Purba., Eggers, T., Susan, E., 2008. Flavonoid Content and Antioksidan Activity of Kharcai-dum (*Kaemferia parviflora*) Wine. *Journal of Science Technology*.
- Rahayu., Suci, A., Suwarsih, M., Laksono, E,W., 2009. *Macam dan Fungsi Antioksidan*, ITB: Bandung.
- Rohman, A., 2005. *Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan*. Forum Diagnosticum., Prodia Diagnostic Educational Services, **1**: 1-12.
- Sabri, 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air*

- (Ipomoea aquatica Forsk.)*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Savitri, E. S., 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Prespektif Obat*. Malang: UIN Malang Press.
- Suprijono, Agus., 2011. *Cooperative Learning Teori dan Aplikasi PAIKEM*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Wibowo, S. 2007. *Budidaya Bawang Putih, Bawang Merah dan Bawang Bombay*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*,. Kanisius: Yogyakarta