

ISSN 1693-8666

available at [http:  
journal.uii.ac.id/index.php/JIF](http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF)

*Scientific Journal of Pharmacy*

**JIF** **JURNAL  
ILMIAH  
FARMASI**

**JIF | Edisi 2 | Agustus-Desember 2019 | Hal.51-91**



**UNIVERSITAS  
ISLAM  
INDONESIA**

Jurusan Farmasi FMIPA UII  
Jl. Kaliurang Km. 14,4  
Yogyakarta 55584  
Telp. (0274) 896439 ext. 3047  
Email. [jif@uui.ac.id](mailto:jif@uui.ac.id)

**JURNAL ILMIAH FARMASI**  
(SCIENTIFIC JOURNAL OF PHARMACY)

**PIMPINAN UMUM/ PENANGGUNG JAWAB**  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

**WAKIL PIMPINAN UMUM/ WAKIL PENANGGUNG JAWAB**  
Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UII

***Editor in Chief***

Dr. Arba P. Ramadani, M.Sc., Apt

***Managing Editors***

Annisa Fitria, M.Sc., Apt.

Cynthia Astiti Putri, M.Si., Apt.

Diesty Anita Nugraheni, M.Sc.Apt.

***Editorial Board***

Pinus Jumaryatno, M.Phil, PhD., Apt

Prof. Dr. Is Fatimah

Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt.

Dr. rer. nat. Ronny Martien, M.Si.

Prof. Patrick A Ball

Dr. Hana Morissey

Assoc. Prof. Muhammad Taher

Assoc. Prof. Che Suraya Zin

Assoc. Prof. Deny Susanty

Dr. Matthew Bertin

Dr. Mohammed Hada

Dr. Tommy Julianto

***Reviewers***

Dr. Vitarani Dwi Ananda Ningrum, Apt.

Suci Hanifah, P.hD., Apt.

Dr. Farida Hayati, Apt

Dr. Lutfi Chabib, Apt

Dr. Siti Zahliyatul Munawiroh, Apt.

Saepudin, P.hD., Apt.

Dr. Asih Triastuti, Apt

Dr. Yandi Syukri, M.Si., Apt.

Dr. Noor Fitri

**Penerbit**

Jurusan Farmasi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

**Alamat Penerbit**

Jurusan Farmasi FMIPA UII  
Jl. Kaliurang Km. 14,4 Yogyakarta 55584  
Telp. (0274) 896439 ext. 3047  
Email: jif@uii.ac.id  
<https://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>

## DAFTAR ISI

Susunan Redaksi	i
Daftar Isi	ii
Pengantar Dari Dewan Editor	iii

### Farmasi Sains

Penetapan kadar flavonoid total alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill.) dengan metode spektrofotometri <b>Hani Asmorowati, Novena Yety Lindawati</b>	hal 51-63
Pengaruh pemberian ekstrak nanas ( <i>Ananas comocus</i> (L.) Merr) terhadap penurunan kadar asam urat pada tikus jantan hiperurisemia <b>Ade Arinia Rasyad, Nurbaya, Erjon</b>	hal 64-69
Penentuan fraksi aktif antioksidan ekstrak etanol daun benalu ( <i>Scurrula atropurpurea</i> (Bl.) Denser) yang tumbuh pada pohon rambutan <b>Sista Werdyani, Denda Suli Hartati, Pinus Jumaryatno</b>	hal 70-79
Efek vitamin C dan E terhadap stabilitas epigalokatekin galat (EGCG) pada fraksi etil asetat daun teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> L.) <b>Naniek Widyaningrum, Titiiek Sumarwati, Waode Sitti Sukryana</b>	hal 80-85
Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak rumput laut merah ( <i>Eucheuma cottonii</i> ) Sumbawa dan ekstrak kulit buah lemon ( <i>Citrus limon</i> L.) <b>Dwi Kurniawati Sambodo</b>	hal 86-91

## **PENGANTAR DEWAN EDITOR**

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah Ta'ala yang telah menganugerahkan kesempatan dan kekuatan, sehingga Jurnal Ilmiah Farmasi (JIF) Vol. 15 No. 2 Tahun 2019 dapat diterbitkan. Pada edisi ini dimuat lima artikel pada kelompok Farmasi Sains. Artikel yang disajikan pada kelompok Farmasi Sains diantaranya mengetengahkan topik penemuan obat serta formulasi sediaan obat dari bahan alam.

Besar harapan kami semua artikel yang disajikan dalam edisi ini dapat memberikan manfaat dan menambah wawasan pembaca mengenai perkembangan penelitian dan wacana di bidang farmasi dan kesehatan. Saran dan kritik membangun dari pembaca kami harapkan. Begitu pula, kami mengundang pembaca untuk berpartisipasi mengirimkan artikel untuk dimuat dalam jurnal ini. Bagi pembaca yang berminat, dapat mencermati aturan pengiriman artikel yang sudah ditetapkan dan segera mengirimkannya ke alamat redaksi.

Akhirnya, kami ucapkan selamat membaca dan selamat mencermati, dan tak lupa kami mohon maaf apabila terdapat kesalahan dan kelalaian dalam penerbitan edisi ini.

Yogyakarta, Desember 2019  
**Dewan Editor**

## Determination of total flavonoid content in avocado (*Persea americana* Mill.) using spectrophotometry method

### Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri

Hani Asmorowati\*, Novena Yety Lindawati

Jurusan Farmasi STIKES Nasional Surakarta, Sukoharjo, Jawa Tengah

\*Corresponding author. Email: [haniasmorowati16@gmail.com](mailto:haniasmorowati16@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Flavonoids are antioxidants that can reduce insulin resistance, increase insulin sensitivity, and improve the functions of pancreatic beta cells. Sources of flavonoids can be found in avocados.

**Objective:** This study aimed to determine the total flavonoid content in two different type of avocado (*Persea americana* Mill.) using the Uv-Vis spectrophotometric method.

**Method:** In the Uv-Vis spectrophotometry, the wavelength was measured at 413.6 nm with  $AlCl_3$  reagent to form complex compounds.

**Results:** The average total flavonoid content in the ethanol extract of common avocados was 10.95% b/b with coefficient of variation of 0.33% and 10.31% b/b with 0.28% coefficient of variation in butter avocados.

**Conclusion:** The t-Test showed that the total flavonoid content in ordinary avocados and butter avocados differed significantly ( $p = 0.000 (<0.05)$ ).

**Keywords:** flavonoids, avocados, spectrophotometry.

#### Intisari

**Latar belakang:** Flavonoid merupakan antioksidan yang dapat menurunkan resistensi insulin, meningkatkan sensitivitas insulin, serta memperbaiki fungsi sel-sel beta pankreas. Sumber flavonoid dapat ditemukan pada buah alpukat.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar flavonoid total dari dua varian buah alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis.

**Metode:** Pada metode spektrofotometri Uv-Vis, diukur pada panjang gelombang 413,6 nm dengan reagen  $AlCl_3$  sebagai pembentuk senyawa kompleks.

**Hasil:** Didapatkan kadar rata-rata flavonoid total pada ekstrak etanol buah alpukat biasa 10,95% b/b dengan koefisien variasi 0,33% dan pada alpukat mentega 10,31% b/b dengan koefisien variasi 0,28%.

**Kesimpulan:** Uji statistik *T-Test* menunjukkan bahwa kadar flavonoid total pada buah alpukat biasa dan alpukat mentega terdapat perbedaan yang signifikan ( $p = 0,000 (< 0,05)$ ).

**Kata kunci:** flavonoid, alpukat, spektrofotometri

---

## 1. Pendahuluan

DM (Diabetes Mellitus) atau kencing manis merupakan salah satu jenis penyakit menahun, yang angka kejadiannya semakin meningkat dari tahun ke tahun. Data yang diperoleh dari lembaga kesehatan dunia atau *World Health Organization* (WHO) mencatat pada tahun 2000, penderita diabetes mellitus di Indonesia sebanyak 8,4 juta orang, dan diperkirakan akan

meningkat menjadi 21,3 juta penderita pada tahun 2030 mendatang. Penyakit ini dapat dicegah dengan cara memperbaiki pola gaya hidup. (Rudijanto, 2014).

Gaya hidup kembali ke alam (*back to nature*) menjadi cukup populer saat ini sehingga masyarakat kembali memanfaatkan berbagai bahan alam, termasuk pengobatan dengan tumbuhan obat. Tanaman berkhasiat obat mempunyai nilai lebih ekonomis dan efek samping lebih kecil dibandingkan dengan obat-obat sintetis. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat yaitu buah alpukat (*Persea americana* Mill.). Menurut Malangngi, *et al.* (2012), buah alpukat memiliki dua varietas, yaitu alpukat varietas merah bundar atau disebut alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan varietas alpukat hijau panjang atau disebut alpukat mentega (*Persea americana* Mill.). Kandungan kimia dari daging buah alpukat yaitu flavonoid, saponin, alkaloida, dan tannin.

Menurut Fathonah, *et al.* (2014) flavonoid merupakan antioksidan yang dapat menurunkan resistensi insulin, meningkatkan sensitivitas insulin, serta memperbaiki fungsi sel-sel beta pankreas. Alpukat merupakan salah satu buah sumber flavonoid yang dapat digunakan sebagai buah pilihan bagi penderita diabetes mellitus. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).

## 2. Metodologi penelitian

### 2.1. Alat dan bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, kain hitam, blender, kertas saring, toples kaca, gelas beker (Pyrex), batang pengaduk, corong kaca (Pyrex), *rotatory evaporator* (RV 10 Basic V), neraca analitik (Ohaus EP214), kaca arloji, cawan penguap, gelas ukur (Pyrex), *chamber*, pipet tetes, pipet ukur (Iwaki), pipet volume (Iwaki), labu ukur (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), dan seperangkat alat spektrofotometri uv - vis (Shimadzu UV mini 1240).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah alpukat biasa dan alpukat mentega, etanol 70%, HCl pekat, serbuk Mg, baku kuersetin (Sigma Aldrich),  $AlCl_3$  10% (Merck), asam asetat 5% (Merck), silika gel GF<sub>254</sub> (Merck), etil asetat (Merck), kloroform (Merck), metanol (Merck), dan aquadest.

### 2.2. Pengambilan dan pengolahan sampel

Pengambilan sampel buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) diperoleh dari kawasan pertanian di Tawangmangu RT 05 RW 02, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Determinasi buah alpukat biasa dan alpukat mentega dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada buah alpukat biasa dan alpukat mentega di Laboratorium Biologi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Jawa Tengah. Daging buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea*

*americana* Mill.) dilakukan perubahan bentuk dengan cara dipotong-potong kecil dengan tebal 0,5 mm-1 mm, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama beberapa hari pada udara terbuka dengan tidak terkena sinar matahari langsung, yaitu dengan ditutup kain hitam. Sampel kering kemudian diblender, sehingga didapatkan serbuk kering.

### 2.3. Pembuatan ekstrak

Masing-masing sebanyak 200 gram sampel kering buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Ditambahkan dengan etanol 70% sebanyak 1,5 liter (1:7,5) sampai seluruh sampel terendam, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Maserat disaring dengan menggunakan kain flanel, dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ampas dimaserasi kembali dengan etanol 70% sebanyak 0,5 liter (1:2,5) selama 1 x 24 jam. Selanjutnya disaring menggunakan kain flanel untuk memperoleh filtrat. Semua filtrat disatukan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotatory evaporator* sampai tidak ada lagi cairan yang menetes sehingga diperoleh ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.). Preparasi sampel dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

### 2.4. Uji kualitatif flavonoid

#### 2.4.1. Uji flavonoid dengan pereaksi Wilstater

Masing-masing 100 mg ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Ditambahkan sedikit serbuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna merah-orange (Yuda, *et al.*, 2013).

#### 2.4.2. Uji flavonoid dengan pereaksi Smith-Metcalfe

Masing-masing 100 mg ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Hasil positif jika memberikan warna putih (Yuda, *et al.*, 2013).

#### 2.4.3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> dan fase geraknya adalah kloroform : metanol (1:4) sebanyak 10 mL. Sebanyak 0,01 gram ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan kuersetin standar, masing-masing dilarutkan dalam 0,5 mL etil asetat, kemudian ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng KLT. Lempeng KLT dikeringkan dan di elusi. Bercak kromatogram (noda) yang dihasilkan diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm (Priyanto, *et al.*, 2014). Lempeng KLT disemprot dengan reagen semprot AlCl<sub>3</sub>. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).

## 2.5. Uji kuantitatif kandungan flavonoid

### 2.5.1. Pembuatan larutan baku induk kuersetin 1000 ppm

Ditimbang sebanyak 100 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dengan etanol 70% sampai dengan 100 mL.

### 2.5.2. Pembuatan larutan baku kerja kuersetin 100 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan etanol 70% sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.

### 2.5.3. Pembuatan larutan blangko

Pipet 1 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 mL asam asetat 5%, tambahkan etanol 70% sampai dengan 10 mL.

### 2.5.4. Penentuan operating time

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum teoritis 415 nm (Ipandi, *et al.*, 2016) dengan interval waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil. Diamati kurva hubungan antara absorbansi, waktu, dan tentukan *operating time*.

### 2.5.5. Penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda$ maks) kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 mL asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) (Sari & Ayuhecacia, 2017).

### 2.5.6. Pembuatan kurva baku kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 1000 ppm, kemudian dipipet sebanyak 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL; 0,6 mL dan ditambahkan etanol 70% sampai volumenya 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm. Masing-masing konsentrasi dari seri baku kuersetin dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 mL asam asetat 5%, didiamkan selama *operating time*. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Sari & Ayuhecacia, 2017).

### 2.5.7. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.)

Ditimbang 100 mg masing-masing ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dilarutkan dengan etanol 70% sampai volumenya 100 mL. Larutan tersebut masing-masing dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 mL asam asetat 5%. Sampel didiamkan selama



*operating time*. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Sari & Ayuhecaria, 2017).

## 2.6. Analisis data penelitian

### 2.6.1. Perhitungan kadar

Kadar flavonoid dihitung dengan pengukuran ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) kemudian dihitung dengan rumus:

$$y = a + bx$$

Dimana:

y = serapan (absorbansi)

a = intersep (titik potong kurva terhadap sumbu y)

b = kemiringan (slope) kurva linier

x = konsentrasi (ppm)

r = koefisien relasi

### 2.6.2. Perhitungan Koefisien Variasi (% KV)

Perhitungan % KV digunakan untuk mengetahui perbandingan antara simpangan kadar flavonoid total dengan rata-rata kadar sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang dinyatakan dalam %. Nilai koefisien variasi dinyatakan baik apabila kurang dari 2% (Snyder, *et al.*, 2010). Koefisien variasi dirumuskan dengan:

$$\% KV = \frac{SD}{\text{rata-rata kadar sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

### 2.6.3. Uji Statistika

Uji *Independent T Test* digunakan untuk menguji perbedaan rata-rata antara dua kelompok Independen, sehingga uji ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar flavonoid total yang signifikan antara sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) (Riyanto, 2011).

## 3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis. Metode spektrofotometri Uv-Vis dipilih karena metode yang sederhana, mudah, dan cepat dibandingkan dengan metode yang lain, selain itu dapat digunakan untuk analisis suatu zat berwarna maupun tidak berwarna dalam kadar kecil.

### 3.1. Preparasi sampel

Buah alpukat biasa dan alpukat mentega dilakukan determinasi dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi

menyatakan bahwa buah yang digunakan dalam proses penelitian yaitu buah alpukat biasa dengan nama spesies (*Persea americana* Mill.) termasuk ke dalam familia Lauraceae dan buah alpukat mentega dengan nama spesies (*Persea americana* Mill.) termasuk ke dalam familia Lauraceae.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Proses ekstraksi dilakukan bertujuan untuk mengambil senyawa kimia yang terkandung dalam sampel. Pelarut yang digunakan pada maserasi adalah etanol 70% yang bersifat polar, sehingga dapat menarik secara maksimal senyawa flavonoid yang bersifat polar juga.

Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan selanjutnya ampas di maserasi kembali selama 1 x 24 jam dengan pelarut etanol 70% yang baru. Tujuan dilakukan maserasi kembali yaitu untuk memaksimalkan proses penyarian sehingga ekstrak yang didapat lebih maksimal. Pada proses maserasi cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Pelarut yang telah menyari zat aktif akan ada pada kondisi terpekat dan akan didesak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan dengan yang di luar sel (Depkes RI, 1989).

Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotatory evaporator* dengan suhu maksimal 50°C dan dengan kecepatan 125 rpm. Maksimal suhu yang digunakan adalah 50°C bertujuan untuk menghindari terjadinya kerusakan zat aktif akibat pengaruh suhu tinggi. Tujuan dari pemekatan adalah untuk memisahkan pelarut etanol 70% dengan filtrat yang diperoleh sehingga didapatkan ekstrak kental.

Hasil organoleptis ekstrak buah alpukat biasa dan alpukat mentega yaitu berbentuk cairan kental, berbau khas, dan berwarna coklat tua. Hasil rendemen yang diperoleh pada ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dari tiga kali replikasi berturut-turut yaitu 22,25%, 20,60%, dan 20,45% serta untuk alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dari tiga kali replikasi berturut-turut yaitu 32,35%, 32,95%, dan 32,65%. Hasil rendemen yang diperoleh pada ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) ditunjukkan pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil rendemen sampel

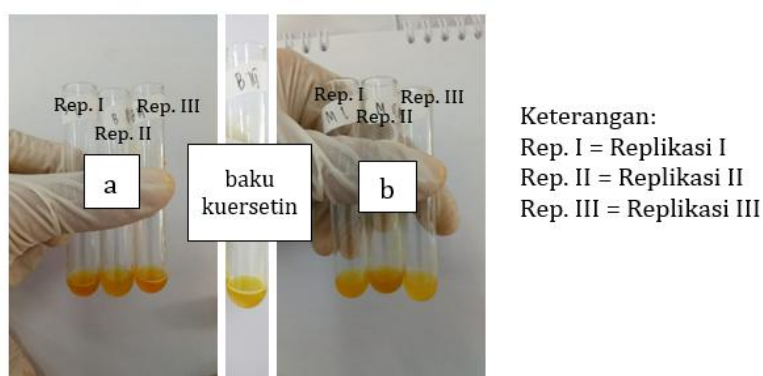
Sampel ekstrak etanol 70%	Hasil rendemen		
	Replikasi 1 (%)	Replikasi 2 (%)	Replikasi 3 (%)
Buah alpukat biasa	22,25	20,60	20,45
Buah alpukat mentega	32,35	32,95	32,65

### 3.2. Uji kualitatif

Uji kualitatif senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid dalam sampel sebelum dilakukan uji kuantitatif. Uji kualitatif senyawa flavonoid meliputi pereaksi Wilstater, pereaksi Smith-Metcalfe, dan metode KLT.

#### 3.2.1. Pereaksi Wilstater

Hasil identifikasi sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dari tiga kali replikasi dengan penambahan HCl pekat dan serbuk Mg menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid dengan adanya perubahan warna dari coklat ekstrak menjadi orange. Hal ini sesuai dengan baku kuersetin sebagai pembanding yang memiliki perubahan warna yang serupa yaitu warna orange.

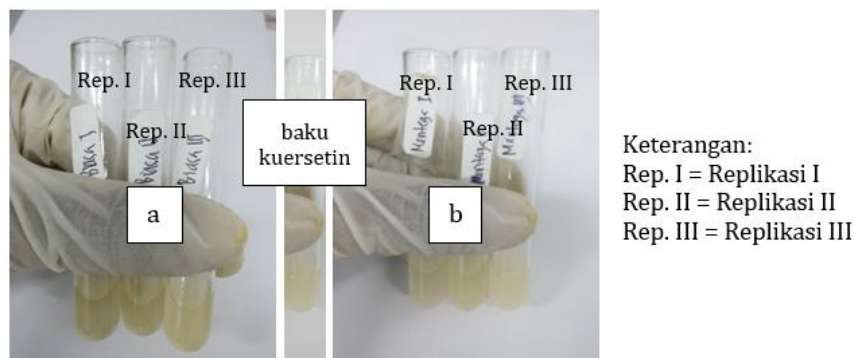


**Gambar 1.** Hasil uji flavonoid dengan pereaksi Wilstater buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) positif mengandung flavonoid, ditunjukkan dengan warna orange yang serupa dengan baku kuersetin

Gambar 1 menunjukkan hasil uji flavonoid dengan pereaksi Wilstater. Penambahan HCl berfungsi untuk mendeteksi senyawa yang mengandung inti benzopiranon, sehingga setelah penambahan HCl akan menghasilkan garam benzopirilium yang disebut juga garam flavilium. Reduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna orange pada flavonol.

#### 3.2.2. Pereaksi Smith-Metcalfe

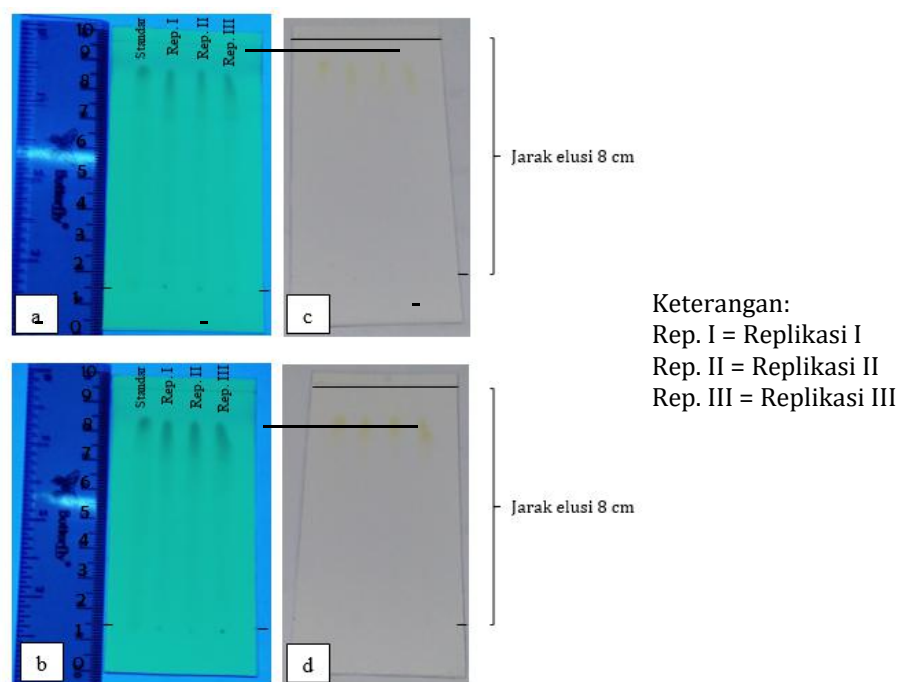
Hasil identifikasi sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) tiga kali replikasi dengan penambahan HCl pekat dan dipanaskan menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid dengan adanya perubahan warna dari coklat ekstrak menjadi putih kekuningan. Hal ini sesuai dengan kontrol baku kuersetin sebagai pembanding yang memiliki perubahan warna yang serupa yaitu warna putih kekuningan.



**Gambar 2.** Hasil uji flavonoid dengan pereaksi Smith-Metcalfe buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) positif mengandung flavonoid, ditunjukkan dengan warna putih kekuningan yang serupa dengan baku kuersetin

Gambar 2 menunjukkan hasil uji flavonoid dengan pereaksi Smith-Metcalfe. Penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis dan memutus ikatan glikosida. Pemanasan berfungsi untuk mempercepat reaksi hidrolisis yang terjadi, sehingga terjadi perubahan warna dari coklat ekstrak menjadi putih.

### 3.3. KLT



**Gambar 3.** Hasil KLT buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) pada sinar UV 254 nm menunjukkan warna bercak kuning kecoklatan yang serupa dengan standar kuersetin. Hasil KLT buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) setelah disemprot reagen  $AlCl_3$  menunjukkan warna bercak kuning intensif yang serupa dengan standar kuersetin.

Gambar 3 menunjukkan hasil KLT positif mengandung flavonoid pada sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana*

Mill.) pada masing-masing replikasi. Hasil ditunjukkan dengan nilai hRf dan warna bercak yang sama yaitu warna kuning kecoklatan antara sampel dengan pembanding standar kuersetin. Penambahan reagen semprot  $AlCl_3$  menunjukkan bercak warna kuning menjadi lebih intensif, hal ini terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks. Pada fase gerak, jarak pengembangan yang ditempuh adalah 8 cm. Hasil KLT buah alpukat biasa dan alpukat mentega dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

**Tabel 2.** Hasil KLT buah alpukat biasa

Replikasi	hRf	Warna bercak pada sinar UV	Penampak bercak
		254 nm	$AlCl_3$
1	86	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
2	86	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
3	86	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
Baku kuersetin	88	Kuning kecoklatan	Kuning intensif

**Tabel 3.** Hasil KLT buah alpukat mentega

Replikasi	hRf	Warna bercak pada sinar UV	Penampak bercak
		254 nm	$AlCl_3$
1	85	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
2	85	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
3	85	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
Baku kuersetin	87	Kuning kecoklatan	Kuning intensif

Uji kualitatif ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan pereaksi Wilstater, pereaksi Smith-Metcalfe, dan KLT diperoleh hasil positif mengandung flavonoid. Hasil uji kualitatif ditunjukkan pada tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil uji kualitatif flavonoid

Uji Kualitatif Flavonoid	Standar baku kuersetin	Hasil	
		Ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa	Ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega
Pereaksi Wilstater	Warna orange	Warna orange (Positif)	Warna orange (Positif)
Pereaksi Smith-Metcalfe	Warna putih	Warna putih (Positif)	Warna putih (Positif)
KLT	Warna bercak kuning kecoklatan	Warna bercak kuning kecoklatan (Positif)	Warna bercak kuning kecoklatan (Positif)

### 3.4. Uji kuantitatif

#### 3.4.1. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel bereaksi sempurna dan membentuk senyawa kompleks (Gandjar & Abdul, 2007). *Operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku kuersetin 100 ppm dengan interval waktu 2 menit dan dilakukan selama 60 menit. Hasil penentuan *operating time* diperoleh pada menit ke 34.

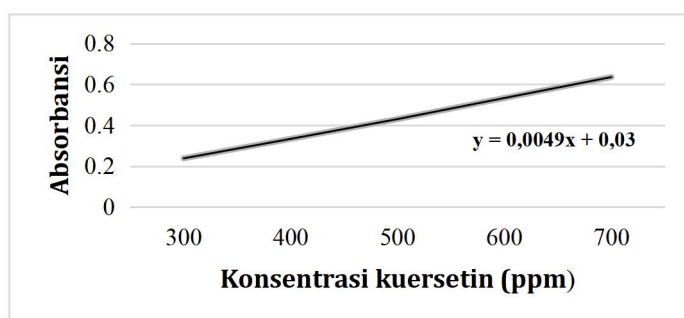
#### 3.4.2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang dihasilkan suatu senyawa pada serapan maksimum (Gandjar & Abdul, 2007). Alasan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang saat mencapai serapan maksimum, selain itu juga memiliki daya serap yang relatif konstan.

Penentuan panjang gelombang maksimum untuk kuersetin dengan cara membaca serapan larutan baku kerja kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini yaitu 413,6 nm.

#### 3.4.3. Penentuan kurva baku

Pembuatan kurva baku menggunakan larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm. Pemilihan konsentrasi didasarkan pada hukum Lambert-Beert yang menyatakan syarat serapan adalah 0,2-0,8 untuk menghindari terjadinya kesalahan fotometrik, sehingga kesalahan analisis masih dalam batas yang diterima yaitu 0,5-1 %. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan panjang gelombang maksimum 413,6 dan *operating time* selama 34 menit.



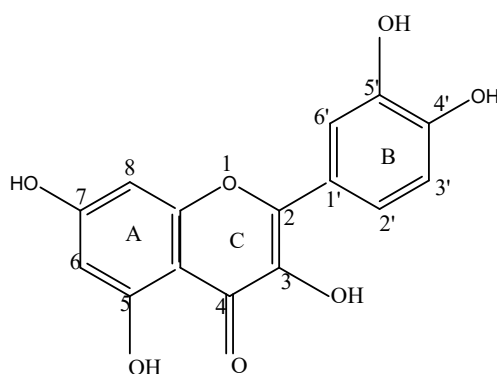
**Gambar 4.** Kurva baku kuersetin yang diukur pada panjang gelombang 413,6 nm dengan *operating time* pada menit ke 34

Gambar 4 menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin besar konsentrasi larutan baku standar kuersetin maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang dihasilkan. Pada pengukuran absorbansi diperoleh persamaan regresi kuersetin  $y = 0,0049x + 0,03$ . Hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ )

sebesar 0,9999. Nilai ( $r$ ) yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat.

#### 3.4.4. Penentuan kadar flavonoid total dalam sampel buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.)

Preparasi sampel dari masing-masing replikasi dilakukan sebanyak tiga kali, bertujuan untuk memperoleh data yang lebih akurat. Digunakan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Struktur kuersetin dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 5.** Struktur kuersetin (Azizah, *et al.*, 2014)

Kandungan flavonoid total ditentukan berdasarkan reaksi kolorimetri yaitu setelah sampel direaksikan dengan  $AlCl_3$  dalam medium asam. Penambahan  $AlCl_3$  dalam sampel dapat membentuk kompleks antara aluminium klorida dengan kuersetin sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visibel (tampak) dan ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Fungsi penambahan asam asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visibel (tampak).

**Tabel 5.** Hasil penetapan kadar flavonoid buah alpukat biasa

Sampel / replikasi	Pengulangan tiap replikasi	Kadar (%)	Rata-rata kadar (%)	SD	KV (%)
Buah alpukat biasa 1	1	10,88	10,94		
	2	10,96			
	3	10,98			
Buah alpukat biasa 2	1	10,92	10,92	0,0360	0,33%
	2	10,90			
	3	10,94			
Buah alpukat biasa 3	1	10,96	10,99		
	2	11,00			
	3	11,00			

Berdasarkan data pada tabel 5 dapat dilihat bahwa sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) memiliki kadar rata-rata flavonoid total yaitu 10,95% dengan koefisien variasi sebesar 0,33%.

**Tabel 6.** Hasil penetapan kadar flavonoid buah alpukat mentega

Sampel / replikasi	Pengulangan tiap replikasi	Kadar (%)	Rata-rata kadar (%)	SD	KV (%)
Buah alpukat mentega 1	1	10,22	10,29		
	2	10,29			
	3	10,35			
Buah alpukat mentega 2	1	10,33	10,34	0,0289	0,28%
	2	10,33			
	3	10,35			
Buah alpukat mentega 3	1	10,26	10,29		
	2	10,31			
	3	10,31			

Pada tabel 6 dapat dilihat bahwa ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) memiliki kadar rata-rata flavonoid total yaitu 10,31% dengan koefisien variasi sebesar 0,28%. Hal ini menunjukkan kadar rata-rata flavonoid total pada sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) relatif lebih tinggi dibandingkan dengan alpukat biasa (*Persea americana* Mill.). Nilai koefisien variasi pada sampel buah alpukat biasa dan alpukat mentega memenuhi persyaratan koefisien variasi karena kurang dari 2%. Hal tersebut menunjukkan bahwa data pada penetapan kadar flavonoid total dalam buah alpukat biasa dan alpukat mentega diperoleh dengan tingkat ketelitian kerja yang baik.

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KADAR FLAVONOID TOTAL	Equal variances assumed	.031	.862	31.885	16	.000	.64333	.02018	.60056	.68611
	Equal variances not assumed			31.885	15.998	.000	.64333	.02018	.60056	.68611

**Gambar 6.** Hasil uji statistik *Independent Samples T-Test*

Gambar 6 menunjukkan hasil uji statistika *Independent Samples T-Test*. Uji statistika menggunakan uji *Independent Samples T-Test* dilakukan untuk mengetahui perbandingan kedua kadar dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji *Independent Samples T-Test* menunjukkan di



kolom *sig.* (2 tailed) yaitu sebesar  $p = 0,000 (< 0,05)$  yang artinya ada perbedaan signifikan rata-rata kadar flavonoid total pada sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dengan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) memiliki kadar rata-rata flavonoid total sebesar 10,95% dengan koefisien variasi sebesar 0,33% relatif lebih tinggi dibandingkan dengan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) sebesar 10,31% dengan koefisien variasi sebesar 0,28%.

#### Daftar pustaka

- Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Dirjen POM.
- Fathonah, R., Indriyanti, A., & Kharisma, Y. (2014). Labu kuning (*Cucurbita moschata* Durch.) untuk penurunan kadar glukosa darah puasa pada tikus model diabetik. *Global Medical & Health Communication*, 2, 27–33.
- Gandjar, I. G., & Abdul, R. (2007). *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Pharmascience*, 3(1), 93–100.
- Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J. (2012). Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 5.
- Priyanto, J. A., Pujiyanto, S., & Rukmi, I. (2014). Flavonoids production capability test of tea Mistletoe (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans) endophytic bacteria isolates. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 22(4), 89-96.
- Riyanto, A. (2011). *Pengolahan dan analisis data kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Sari, A. K., & Ayuhecaria, N. (2017). Penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak beras hitam (*Oryza Sativa* L) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), 327–335.
- Snyder, L. R., & et al. (2010). *Introduction to modern liquid chromatography 3rd ed*, Hoboken: John Wiley and Sons Inc. (3rd ed). Hoboken: John Wiley and Sons Inc.
- Yuda, K. A., Anthara, M. S., & Dharmayudha, A. A. G. O. (2013). Identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak etanol buah Pare (*Momordica charantia*) dan pengaruhnya terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2), 87–95.

## Effects of pineapple (*Ananas comocus* (L.) Merr) extract to lower uric acid levels in hyperurismic in male rats

### Pengaruh pemberian ekstrak nanas (*Ananas comocus* (L.) Merr) terhadap penurunan kadar asam urat pada tikus jantan hiperurisemia

Ade Arinia Rasyad\*, Nurbaya, Erjon

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang, Palembang

\*Corresponding author. Email: [adearinia74@gmail.com](mailto:adearinia74@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Pineapples are empirically used by the society to treat gout, and to scientifically prove it, the research was conducted to examine the anti-hyperuricemic effects of the extract of pineapples (*Ananas comocus* (L.) Merr) in white rats induced by potassium oxonate and chicken liver juice.

**Method:** This research was an experimental study with a complete randomized design. Animals were divided into 5 groups: negative control group (1% tween 80), positive group (27 mg/kgBW allopurinol), and group III, IV, V given pineapple extract at doses of 125, 250, and 500 mg/kgBW, respectively. Uric acid levels were measured on days 0, 7, 14, and 21.

**Results:** After the treatment using pineapple extract given for 21 days, the mean percentages of decrease in uric acid levels at doses of 125, 250, and 500 mg/kgBW were 18.61%, 27.49%, and 34.27%, respectively, and the positive control had an average of 38.16%.

**Conclusion:** The findings indicated that the three doses could reduce the uric acid levels in hyperuricemic rats. The optimal dose of pineapple extract that could decrease the uric acid levels was the dose of 500 mg/kgBW because it was equal to allopurinol with a significance value of 0.497.

**Keywords:** *Ananas comocus* L, antihyperuricemia, potassium oxonate.

#### Intisari

**Latar belakang:** Buah nanas secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit asam urat, untuk membuktikan secara ilmiah maka dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui efek antihiperurisemia ekstrak buah nanas (*Ananas comocus* (L.) Merr) terhadap tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat dan jus hati ayam.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Hewan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (tween 80 1%), kelompok positif (allopurinol 27 mg/kgBB), kelompok III, IV, V diberi ekstrak buah nanas dengan dosis 125, 250 dan 500 mg/kgBB. Pengukuran kadar asam urat dilakukan pada hari ke-0, 7, 14, dan 21.

**Hasil:** Hasil perlakuan setelah diberikan ekstrak buah nanas selama 21 hari, rata-rata persentase penurunan kadar asam urat pada dosis berturut-turut yaitu 125, 250, dan 500 mg/kgBB sebesar 18,61%, 27,49%, 34,27% serta pada kontrol positif sebesar 38,16%.

**Kesimpulan:** Tiga dosis pemberian ekstrak tersebut dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus hiperurisemia. Dosis ekstrak buah nanas yang optimal dapat menurunkan kadar asam urat adalah dosis 500 mg/kgBB karena sebanding dengan allopurinol dengan nilai signifikansi 0,497.

**Kata Kunci :** *Ananas comocus* L, antihiperurisemia, kalium oksonat.

---

## 1. Pendahuluan

Hiperurisemia merupakan keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat darah di atas normal. Hiperurisemia bisa terjadi karena peningkatan metabolisme asam urat (*overproduction*), penurunan asam urat (*underexcretion*) atau gabungan keduanya (Sudoyo,

2006). Asam urat merupakan senyawa kimia hasil akhir dari metabolisme asam nukleat atau metabolisme purin dalam tubuh (Shamley, 2005). Kadar asam urat di dalam darah meningkat jika terlalu banyak mengkonsumsi makanan yang mengandung purin tinggi seperti ekstrak daging, kerang, hati, ginjal, limpa, paru dan otak (Schwinghammer, 2012).

Dalam sebuah riset epidemiologi yang dilakukan selama sepuluh tahun disimpulkan terjadi peningkatan prevalensi penyakit gout dan hiperurisemia. Meskipun prevalensi gout meningkat pada kedua jenis kelamin, laki-laki memiliki tingkat kejadian lebih tinggi dari pada wanita (Wallace *et al.*, 2004). Penderita penyakit gout seringkali menggunakan allopurinol sebagai obat penurunan kadar asam urat dengan mekanisme kerja sebagai inhibitor xantin oksidase karena memiliki struktur mirip xantin yang merupakan substrat xantin oksidase. Allopurinol memiliki efek samping seperti mual, diare, gangguan pencernaan, sakit kepala, kulit merah serta gatal (Wulandari *et al.*, 2012). Oleh karena itu, perlu dicari obat yang efektif dengan efek samping yang minimum dan harga yang relatif murah. Salah satu upaya dalam penanganan asam urat adalah dengan menggunakan bahan alam baik dari hewan maupun tumbuhan. Secara empiris bahan alam yang memiliki efek antihiperurisemia diantaranya adalah buah nanas.

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Sevilia & Dwiningtyas (2015) yang berjudul pengaruh konsumsi jus buah nanas terhadap penurunan kadar asam urat pada lansia di panti werdha Mojopahit Mojokerto, di dapat hasil bahwa dari 21 responden 19 orang ( 90,5%) mengalami penurunan kadar asam urat dengan nilai rata-rata menurun menjadi 8,4 mg/dl. Satu orang (4,8%) mengalami peningkatan, satu orang (4,8%) tetap. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh jus nanas terhadap penurunan kadar asam urat.

Berdasarkan uji pendahuluan (orientasi) yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak buah nanas dengan dosis 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kg BB selama 7 hari dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan dan dengan pemberian jus hati ayam dapat meningkatkan kadar asam urat pada tikus putih jantan meskipun kenaikannya masih dalam jumlah yang sedikit, sehingga pada penelitian, peneliti berencana akan menambahkan kalium oksonat untuk menaikkan kadar asam urat dan menggunakan ekstrak buah nanas dengan dosis mengacu pada uji pendahuluan yang telah dilakukan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah tentang efek ekstrak buah nanas, terhadap penurunan kadar asam urat dan diharapkan juga dapat dijadikan obat alternatif sebagai pengobatan pada penyakit asam urat.

## 2. Metodologi penelitian

### 2.1. Alat

Alat destilasi, botol maserasi, *rotary evaporator*, labu ukur (*pyrex*<sup>®</sup>), erlenmeyer (*Approx*<sup>®</sup>), beaker glass (*Approx*<sup>®</sup>), kaca arloji, gelas ukur (*Iwaki*<sup>®</sup>), lumpang dan alu, timbangan

untuk hewan (*HWH*<sup>®</sup>), spatel, spuit 3 ml (*One med*<sup>®</sup>), sonde oral, *chopper*, kapas, tissue, sarung tangan, kain flanel, masker, jarum lancet, *blood uric acid test strip (easy touch)*<sup>®</sup>.

## 2.2. Bahan

Buah nanas (*Ananas comocus* L. Merr), etanol 96% (*Dira Sonita*<sup>®</sup>), tween 80 (*Brataco*<sup>®</sup>), NaCl fisiologis 0,9% (*Widatra Bhakti*<sup>®</sup>), aquadest, makanan standar tikus, kalium oksonat (*Aldrich*<sup>®</sup>) hati ayam segar, alopurinol tablet (Glaxosmithkline)

## 2.3. Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan sehat, galur strain wister umur 2-3 bulan, bobot 150-250 gram sebanyak 25 ekor.

## 2.4. Prosedur penelitian

### 2.4.1. Pembuatan ekstrak buah nanas (*Ananas comocus* L. Merr)

Buah nanas dibersihkan dari kulitnya, dipotong-potong, ditimbang sebanyak 1000 gram, kemudian di *chopper* sampai terbentuk serat kasar, lalu dimaserasi menggunakan etanol destilat. Perendaman dilakukan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan, Maserat diuapkan dengan destilasi vakum dan dikentalkan dengan *rotary evaporator*.

### 2.4.2. Perlakuan hewan uji

Setelah diaklimatisasi selama 7 hari, kemudian hewan uji di induksi dengan menggunakan kalium oksonat 300 mg/kgBB selama 3 hari dan diberikan jus hati ayam selama 28 hari. Setelah semua hewan uji dalam keadaan hiperurisemia, hewan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok 1 kontrol negatif diberikan tween 80 1%, kelompok II sebagai pembanding allopurinol 27 mg/kgBB, kelompok III diberikan ekstrak buah nanas dosis 125 mg/kgBB, kelompok IV diberikan ekstrak buah nanas dosis 250 mg/kgBB, kelompok V diberikan ekstrak buah nanas dosis 500 mg/kgBB. Penelitian dilakukan selama 4 minggu, kadar asam urat diukur dengan menggunakan alat *blood uric acid test strip* pada hari ke 0, 7, 14 dan 21.

## 2.5. Analisa data

Data hasil penelitian akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) *two way* dan dilanjutkan dengan uji *Duncan*.

## 3. Hasil dan pembahasan

Sampel sebesar 1000 gram sampel buah nanas segar menghasilkan ekstrak kental seberat 61,2 gram dengan persen rendemen 6,12% b/b. Hasil pengujian efek antihiperurisemia terhadap kadar asam urat tikus putih jantan pada hari ke-0, 7, 14 dan 21 nilai kadar asam urat dan nilai persen penurunan kadar asam urat dipengaruhi oleh dosis dan lama pemberian sediaan. Dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

**Tabel 1** Rata-rata kadar asam urat pada semua kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar asam urat			
	Hari Ke-0	Hari ke-7	Hari Ke-14	Hari Ke-21
Tween 80	10,38 ± 3,53	10,88 ± 3,49	11,38 ± 3,52	11,88 ± 3,60
Allopurinol	11,92 ± 3,32	9,78 ± 3,31	8,90 ± 3,34	7,70 ± 3,35
Ekstrak dosis 125 mg/kgbb	12,28 ± 3,96	11,20 ± 3,95	10,48 ± 3,99	10,18 ± 3,98
Ekstrak dosis 250 mg/kgbb	11,56 ± 4,70	10,08 ± 4,72	9,76 ± 4,60	8,72 ± 4,53
Ekstrak dosis 500 mg/kgbb	11,40 ± 4,61	9,46 ± 4,62	8,80 ± 4,54	7,94 ± 4,60

Berdasarkan tabel di atas (tabel 4.1) dapat dilihat bahwa semua kelompok perlakuan setelah diberikan sediaan mengalami penurunan kadar asam urat dan pada perlakuan yang diberikan tween 80 mengalami sedikit kenaikan. Semua kelompok perlakuan setelah diberikan sediaan uji mengalami peningkatan persen penurunan kadar asam urat. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar asam urat pada masing-masing hewan percobaan.

**Tabel 2** Rata-rata persen penurunan kadar asam urat pada semua kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata persen penurunan kadar asam urat (%)			
	H-0	H-7	H-14	H-21
Tween 80	0 ± 0	-5,33 ± 2,81	-10,51 ± 3,65	-15,55 ± 4,41
Allopurinol	0 ± 0	19,37 ± 6,77	27,40 ± 9,73	38,16 ± 13,10
Ekstrak dosis 125 mg/kgbb	0 ± 0	9,52 ± 2,95	15,99 ± 5,68	18,61 ± 6,09
Ekstrak dosis 250 mg/kgbb	0 ± 0	14,72 ± 6,27	17,58 ± 6,87	27,49 ± 9,58
Ekstrak dosis 500 mg/kgbb	0 ± 0	19,31 ± 7,77	25,52 ± 8,84	34,27 ± 12,64

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa setelah pemberian ekstrak buah nanas, dilakukan pengecekan pada hari ke 0, 7, 14 dan 21 terlihat bahwa kadar asam urat pada tikus hiperurisemia mengalami penurunan kecuali pada tween 80 mengalami sedikit kenaikan kadar asam urat, hal tersebut karena hewan percobaan setiap hari diberikan makanan diet purin tinggi (MDPT) sehingga terjadi peningkatan kadar asam urat dan tidak diberikan sediaan uji.

Pada kelompok ekstrak dosis 125 mg/kgbb dan dosis 250 mg/kgbb dilihat dari fenomena hari ke-7, 14 dan 21 menunjukkan adanya penurunan kadar asam urat. Namun, dilihat dari rata-rata kadar asam urat tikus putih jantan masih dalam keadaan hiperurisemia ( $\geq 7$  mg/dl). Pada kelompok ekstrak dosis 500 mg/kgbb dan allopurinol pada hari ke 7 dan 14 menunjukkan adanya penurunan kadar asam urat, namun kadar asam urat tikus putih jantan masih dalam keadaan hiperurisemia dan fenomena pada hari ke 21 menunjukkan kadar asam urat mendekati kadar normal asam urat, dengan nilai kadar asam urat pada dosis 500 mg/kgbb sebesar 7,94

mg/dl dan allopurinol sebesar 7,70 mg/dl. Perbedaan kadar asam urat terjadi karena setiap dosis memiliki jumlah zat aktif yang berbeda, buah nanas mengandung vitamin C, flavonoid, dan bromelin yang diduga dapat menurunkan kadar asam urat.

Buah nanas mengandung vitamin C yang sangat tinggi. Vitamin ini bekerja dengan membantu sistem yang berhubungan dengan ginjal untuk mengeluarkan lebih banyak asam urat. Selain itu, bermanfaat juga untuk menjaga purin agar tidak diproduksi menjadi asam urat (Sevilia & Dwiningtyas, 2014). Buah nanas mengandung flavonoid sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat kerja enzim xanthin oksidase yang dapat menyebabkan metabolisme purin yang membentuk asam urat tidak terjadi (Deviandra *et al.*, 2013). Selain itu, enzim bromelin yang terdapat pada buah nanas terbukti efektif bekerja sebagai anti-inflamasi dan analgetik bagi penderita hiperurisemia (Putri & Anita, 2017).

Pada kelompok pembanding yaitu allopurinol memiliki efek antihiperurisemia yang paling tinggi dari semua kelompok perlakuan dimana pada hari ke-21 menunjukkan penurunan kadar asam urat yang paling tinggi yaitu sebesar 38,16%, namun secara statistik terlihat bahwa allopurinol tidak berbeda secara nyata dengan dosis 500 mg/kgBB. Hal ini karena dosis 500 mg/kgBB memiliki efek yang sebanding dengan allopurinol. Penurunan kadar asam urat yang terjadi pada kelompok kontrol positif (allopurinol) disebabkan karena allopurinol merupakan obat antihiperurisemia oral yang memiliki mekanisme kerja menghambat enzim xanthin oksidase sehingga pembentukan asam urat dapat terganggu (Price & Wilson, 2003).

Hasil yang di dapat dari persentase penurunan kadar asam urat dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan uji normalitas dan homogenitas data dan diperoleh bahwa data telah memenuhi uji normalitas dan homogenitas dengan nilai signifikan dari normalitas  $> 0,05$  dan pada uji homogenitas memiliki nilai signifikan  $> 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa data pada semua kelompok perlakuan terdistribusi secara normal dan memiliki nilai yang seragam. Kemudian dilakukan analisa data dengan menggunakan *Varian two way* (ANOVA) untuk melihat apakah ada perbedaan pada semua kelompok perlakuan dan untuk melihat pengaruh dosis dan lamanya pemberian terhadap hasil penurunan kadar asam urat pada tikus hiperurisemia.

Hasil dari analisa *varian two way* (ANOVA) menunjukkan bahwa ada pengaruh antara dosis dan lama pemberian terhadap penurunan kadar asam urat pada tikus hiperurisemia dengan nilai signifikan yaitu 0,011 ( $p < 0,05$ ), kemudian dilanjutkan dengan uji *duncan* pada tingkat kepercayaan 95%. Berdasarkan dosisnya terlihat bahwa ekstrak buah nanas yang paling optimal adalah dosis 500 mg/kgBB karena tidak berbeda secara nyata terhadap kontrol positif (allopurinol) dengan nilai signifikan sebesar 0,497, sedangkan pada dosis 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB berbeda secara nyata dengan allopurinol. Berdasarkan nilai signifikan ( $p > 0,05$ ) maka artinya semakin tidak berbeda secara nyata efek yang dihasilkan pada kelompok perlakuan, yang berarti bahwa pada dosis 500 mg/kgBB memiliki efek yang sebanding dengan

allopurinol dalam menurunkan kadar asam urat pada tikus hiperurisemia. Berdasarkan parameter lama pemberian dapat terlihat bahwa lama pemberian hari ke-7 dan hari ke-14 tidak berbeda secara nyata karena berada pada satu subset yang sama, sedangkan lama pemberian pada hari ke-21 terlihat berbeda secara nyata karena berada pada subset yang berbeda, dan pada hari ke-21 menunjukkan penurunan kadar asam urat tertinggi.

#### 4. Kesimpulan

Ekstrak buah nanas (*Ananas comocus* (L) Merr) dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat dan jus hati ayam. Dosis yang optimal dalam menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan terjadi pada dosis tertinggi yaitu dosis 500 mg/kgBB dengan persentase penurunan kadar asam urat pada hari ke-21 sebesar 34,27%.

#### Daftar pustaka

- Deviandra, R., Safitri, F., & Handaja, D. (2017). Efek pemberian seduhan seledri (*Apium Graveolens* L.) terhadap kadar asam urat pada tikus putih jantan strain Wistar (*Rattus norvegicus*) Hiperurisemia. *Saintika Medika*, 9(2), 75.
- Price, S. A., & Wilson, L. M. (2003). *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit* (Ed VI). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Putri, A. B., & Anita, A. (2017). Efek antiinflamasi enzim bromelin nanas terhadap osteoarthritis. *Jurnal Kesehatan*, 8(3), 489.
- Schwinghammer, T. L. (2012). *Pharmacotherapy handbook* (Ed IX). USE: McGraw-Hill.
- Sevilia, D. A. V. D., & Dwiningtyas, M. (2014). *Pengaruh konsumsi jus nanas terhadap penurunan kadar asam urat pada Lansia di Upt Panti Werdha Mojopahit Mojokerto*.
- Shamley, D. (2005). *Pathophysiology an essential text for the allient health profession*. USA: Elsevier Limited.
- Sudoyo, A. W. (2006). *Buku ajar ilmu penyakit dalam*. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Wallace, K. L., Riedel, A. A., Joseph-Ridge, N., & Wortmann, R. (2004). Increasing prevalence of gout and hyperuricemia over 10 years among older adults in a managed care population. *Journal of Rheumatology*, 31(8), 1582-1587.
- Wulandari, S., Subandi, & Mutholib. (2010). *Inhibisi xantin oksidase oleh ekstrak etanol kulit melinjo (Gnetum gnemon) relatif terhadap allupurinol*. Universitas Negeri Malang.

**Determination of antioxidant active fraction in the ethanol extract of benalu leaves (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) growing on rambutan trees**

**Penentuan fraksi aktif antioksidan ekstrak etanol daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang tumbuh pada pohon rambutan**

Sista Werdyani\*, Denda Suli Hartati, Pinus Jumaryatno

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, DI Yogyakarta

\*Corresponding author. Email: [sista.werdyani@uui.ac.id](mailto:sista.werdyani@uui.ac.id)

---

**Abstract**

**Background:** The antioxidant activity of benalu can vary according to the host plant. Studies of antioxidant active compounds in benalu which grows on rambutan trees have never been conducted even though rambutans are known to have a high antioxidant activity.

**Objective:** To investigate the class of compounds contained in the active fraction with the highest antioxidant activity and to measure the antioxidant activity using DPPH assay.

**Method:** Extraction was carried out through maceration followed by fractionation using the vacuum column chromatography (KCV). The qualitative test of extract compound content and subsequent fractions was conducted using the thin layer chromatography (TLC) method with the help of spray reagent. The antioxidant activity of the extract and fractions was then calculated using the DPPH method.

**Results:** The highest antioxidant activity was in fraction 5 with  $IC_{50}$  value of  $7.211 \pm 0.072$ . The groups of compound in fraction 5 were flavonoids and tannins.

**Conclusion:** The antioxidant active compounds in the ethanol extract of benalu growing on rambutan trees were found in fraction 5 and were thought to belong to the class of flavonoids and/or tannins.

**Keywords:** antioxidant, DPPH, rambutan's benalu, *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser

**Intisari**

**Latar belakang:** Aktivitas antioksidan benalu dapat berbeda apabila inang yang ditumbuhi berbeda. Penelusuran senyawa aktif antioksidan pada benalu rambutan belum pernah dilakukan, padahal pohon rambutan diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

**Tujuan:** Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif dengan aktivitas antioksidan tertinggi dan menghitung aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

**Metode:** Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom vakum (KCV). Uji kualitatif kandungan senyawa ekstrak dan fraksi selanjutnya dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan bantuan reagen semprot. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi kemudian dihitung dengan metode DPPH.

**Hasil:** Aktivitas antioksidan tertinggi adalah fraksi 5 dengan nilai  $IC_{50}$   $7,211 \pm 0,072$ . Kelompok senyawa pada fraksi 5 adalah flavonoid dan tannin.

**Kesimpulan:** Senyawa aktif antioksidan dalam ekstrak etanol daun benalu rambutan terdapat dalam fraksi 5 dan diduga termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid dan atau tannin.

**Kata kunci:** Antioksidan, DPPH, benalu rambutan, *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser

---



## 1. Pendahuluan

Dewasa ini dunia kesehatan banyak membahas tentang cara berbagai penyakit dan bahan-bahan lain merusak tubuh manusia. Kerusakan sel dan jaringan yang merupakan akar dari sebagian besar penyakit disebabkan oleh kelompok kimia yang sangat aktif dan berbahaya yang disebut radikal bebas (Youngson, 2005). Berbagai macam penyakit yang bisa ditimbulkan oleh radikal bebas seperti kerapuhan sel, penyakit degeneratif, katarak, aterosklerosis, dan kanker (Winarsi, 2007). Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan dan tingginya kadar malondialdehid (MDA) dalam plasma. Oleh sebab itu, tubuh kita membutuhkan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Winarsi, 2007). Di Indonesia, salah satu bahan alam yang berkhasiat sebagai antioksidan adalah benalu.

Benalu merupakan tanaman parasit yang tumbuh dengan menghisap makanan dari tanaman inangnya (Pitojo *et al.*, 2007). Benalu diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Hal ini dapat dilihat dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Artanti *et al.* pada tahun 2009 yang mengemukakan bahwa ekstrak benalu yang tumbuh pada inang belimbing, mangga, kenanga, duku, sirsak, kepel, mahkota dewa, dan teh mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  antara 6,4-51,8  $\mu\text{g/ml}$ . Penelitian lain yang dilakukan oleh Fitrilia (2015) menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol 70% dari benalu yang tumbuh di cengkeh memiliki nilai  $IC_{50}$  berturut-turut yaitu 11,4  $\mu\text{g/ml}$  dan 6,8  $\mu\text{g/ml}$ . Nilai  $IC_{50}$  tersebut termasuk ke dalam kelompok aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai  $IC_{50}$  mendekati asam askorbat yang diketahui sebagai senyawa dengan antioksidan yang sangat kuat (Molyneux, 2014).

Aktivitas antioksidan benalu dapat berbeda ketika inang yang ditumbuhi juga berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan inang benalu kemungkinan menyebabkan perbedaan senyawa kimia yang dikandung dan mampu membuat perbedaan nilai  $IC_{50}$ . Perbedaan tersebut terjadi karena benalu menyerap sari makanan dan nutrisi dari inang sehingga senyawa yang dihasilkan dari inang dengan benalu memiliki kemiripan, meskipun kemiripannya tidak mencapai 100% akibat perbedaan genetik dari inang dengan benalu. Inang yang ditumbuhi benalu salah satunya adalah pohon rambutan. Pohon rambutan merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung banyak flavonoid dan fenol. Hal ini didukung oleh penelitian Anshory *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa flavonoid total pada kulit dan biji rambutan sebesar 244,13 mg/g sampel dan 130,29 mg/g sampel dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 1,62 ppm. Mistriyani *et al.* (2018) juga melaporkan bahwa kulit rambutan dapat menghambat radikal bebas dengan  $IC_{50}$  sebesar 3,1  $\mu\text{g/ml}$  untuk kultivar Aceh dan 0,77  $\mu\text{g/ml}$  untuk kultivar Binjai.

Kemampuan antioksidan rambutan tersebut memungkinkan benalu yang tumbuh pada rambutan memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa yang kemungkinan terkandung dalam benalu rambutan dan memiliki aktivitas antioksidan adalah flavonoid, oleh karenanya perlu diekstraksi dengan pelarut etanol. Namun, penelitian lebih lanjut terhadap kandungan senyawa pada benalu rambutan dan aktivitas antioksidannya belum pernah dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan menelusuri fraksi aktif yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun benalu yang tumbuh di pohon rambutan.

## 2. Metodologi penelitian

### 2.1 Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu); *rotary evaporator* (Heidolph); ultrasonikator (Branson); kromatografi kolom vakum (VLC), KLT-*chamber* (Camag); *waterbath* (Memmert); timbangan analitik; corong buchner; mesin penyerbuk (*milling*); dan seperangkat alat gelas. Bahan yang digunakan adalah daun benalu rambutan; etanol 96%; plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck); silika gel F<sub>254</sub> (Merck); standar kuersetin; 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH); akuades; *n*-heksana (Merck); metanol (Merck); etil asetat (Merck); AlCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, dan *Dragendroff*.

### 2.2 Pengumpulan, determinasi, ekstraksi, dan fraksinasi daun benalu

Daun benalu rambutan dikoleksi dari Dusun Setan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta dan kemudian dideterminasi di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Daun benalu yang sudah dikoleksi kemudian disortir, diucuci bersih dan dikeringkan dalam lemari pengering selama 6 jam pada suhu 50°C. Setelah kering, daun kemudian dihaluskan menggunakan *milling*. Serbuk daun benalu selanjutnya disokletasi menggunakan pelarut *n*-heksan untuk menghilangkan klorofil atau deklorofilasi. Proses sokletasi dilakukan bertahap setiap 30 g sampel disoklet dengan 300 mL *n*-heksan dan dilakukan hingga minimal 7 siklus sampai pelarut bening.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun benalu hasil deklorofilasi kemudian dimaserasi dengan etanol selama 3 hari. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan pemanasan diatas *waterbath*. Ekstrak kental yang didapat difraksinasi menggunakan kromatografi kolom cair vakum (KCV). Kolom awalnya diisi dengan 10 g silika gel F<sub>254</sub> yang dipadatkan, kemudian ditambahkan 1 g ekstrak kental di atas silika serta ditutup dengan kertas saring. Pemisahan dilakukan menggunakan fase gerak gradien, yaitu: *n*-heksan 100% (F1), *n*-heksan:etil asetat(30:20) (F2),*n*-heksan:etil asetat (20:30) (F3), etilasetat 100% (F4), etil asetat:metanol (30:20) (F5), etil asetat:metanol (20:30) (F6) dan metanol 100% (F7) dengan masing-masing volume 50 mL.

Masing-masing fraksi dipekatkan kembali hingga kental dengan *rotary evaporator* dan *waterbath*.

### 2.3 Uji kualitatif kandungan senyawa kimia ekstrak

Pengujian kandungan senyawa pada ekstrak dilakukan menggunakan metode KLT. Ekstrak dan fraksi masing-masing dilarutkan dalam etanol, kemudian ditotolkan pada plat silika dan dielusi dengan eluen n-heksan:etil asetat (3:7). Plat kemudian disemprot dengan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  5%;  $\text{FeCl}_3$ ; *Dragendroff*; dan DPPH untuk mendeteksi keberadaan senyawa flavonoid, tannin, alkaloid, dan senyawa antioksidan.

### 2.4 Uji aktivitas antioksidan

Pengujian antioksidan dengan metode DPPH diawali dengan pembuatan larutan DPPH 50 ppm sebanyak 200 mL. Ekstrak dan fraksi selanjutnya dilarutkan dengan methanol untuk mendapatkan larutan stok 1000 ppm. Larutan stok kemudian diencerkan hingga didapat konsentrasi 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 2 mL, ditambah 2 mL DPPH, didiamkan selama 30 menit dalam ruang gelap, dan kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimal DPPH. Kuersetin sebagai pembanding diperlakukan sama dengan sampel seperti cara kerja diatas, namun konsentrasinya berbeda yaitu 1,25; 0,625; 0,313; 0,156; 0,078 ppm. Absorbansi yang didapat kemudian digunakan untuk menghitung persen penghambatan dengan rumus :

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs blanko}} \times 100\% \quad (1)$$

Konsentrasi (x) dengan persen penghambatan (y) kemudian digambarkan korelasinya dan dihitung persamaan garis dengan regresi linier. Nilai  $\text{IC}_{50}$  yang menunjukkan dosis yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50 persen selanjutnya ditentukan dengan mengganti nilai y menjadi 50 pada persamaan garis yang didapatkan.

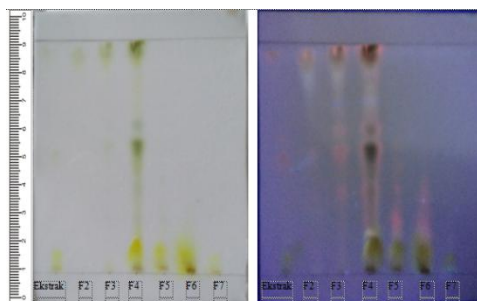
## 3. Hasil dan pembahasan

Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar merupakan benalu termasuk family Loranthaceae, genus *Scurrula*, dan spesies *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser. Sampel kemudian diekstraksi dan difraksinasi menjadi 7 fraksi dengan rendemen seperti dituliskan pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 terlihat fraksi 1 tidak memiliki rendemen, hal ini karena ekstrak sudah mengalami deklorofilasi menggunakan pelarut n-heksana. Oleh karenanya, F1 tidak disertakan pada pengujian selanjutnya. Fraksi dengan rendemen terbanyak adalah fraksi 6, yaitu sebanyak 38,23%.

**Tabel 1.** Data rendemen ekstrak dan fraksi daun benalu rambutan

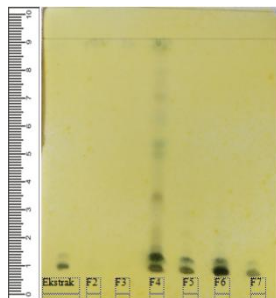
Nama ekstrak/fraksi	Bobot (g)	Rendemen (%)
Ekstrak etanol 96%	1,487	2,2
Fraksi n-heksan 100% (F1)	-	-
Fraksi n-heksan:etil asetat (30:20) (F2)	0,016	1,6
Fraksi n-heksan:etil asetat (20:30) (F3)	0,049	4,9
Fraksi etil asetat 100% (F4)	0,0997	9,97
Fraksi etil asetat:metanol (30:20) (F5)	0,1725	17,25
Fraksi etil asetat:metanol (20:30) (F6)	0,3823	38,23
Fraksi metanol 100% (F7)	0,1139	11,39

Pengujian kandungan kimia secara kualitatif ditunjukkan dengan Gambar 1-3. Gambar 1 menunjukkan hasil pengujian secara kualitatif senyawa flavonoid menggunakan reagen semprot  $\text{AlCl}_3$ . Berdasarkan gambar tersebut tampak bahwa ekstrak dan semua fraksi positif mengandung flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan adanya warna kuning pada plat setelah disemprot  $\text{AlCl}_3$  pada sinar tampak dan fluoresensi kuning hingga hijau di bawah sinar UV 366.



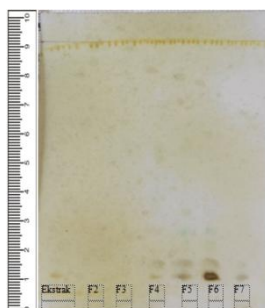
**Gambar 1.** Hasil KLT ekstrak dan fraksi benalu setelah disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$  pada sinar tampak (Gambar kiri) dan sinar UV 366 (Gambar kanan)

Hasil pengujian kandungan tannin dapat dilihat pada Gambar 2. Pada Gambar tersebut tampak bahwa ekstrak, fraksi 4, 5, 6, dan 7 mengandung tannin karena setelah disemprot  $\text{FeCl}_3$  pada sinar tampak terjadi perubahan warna menjadi biru tua. Pada fraksi 2 dan 3 tidak tampak bercak biru tua sehingga kedua fraksi ini negatif tannin.

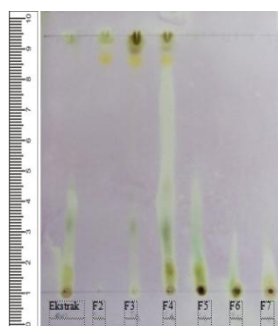


**Gambar 2.** Hasil KLT ekstrak dan fraksi benalu setelah disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$  pada sinar tampak

Pengujian kandungan alkaloid menggunakan Dragendroff juga dilakukan dengan hasil pada Gambar 3. Pada Gambar tersebut tampak bahwa ekstrak dan semua fraksi negatif alkaloid karena setelah disemprot Dragendroff tidak ada yang mengalami perubahan warna. Skrining awal pengujian senyawa antioksidan dilakukan dengan menyemprotkan senyawa DPPH pada plat KLT hasil elusi ekstrak dan fraksi. Hasil pengujian tampak pada Gambar 4. Pada Gambar tersebut tampak bahwa adanya bercak berwarna kuning pada ekstrak dan semua fraksi yang menunjukkan keberadaan senyawa antioksidan. Keseluruhan hasil pengujian kualitatif senyawa dirangkum pada Tabel 2.



**Gambar 3.** Hasil KLT ekstrak dan fraksi benalu setelah disemprot dengan Dragendroff

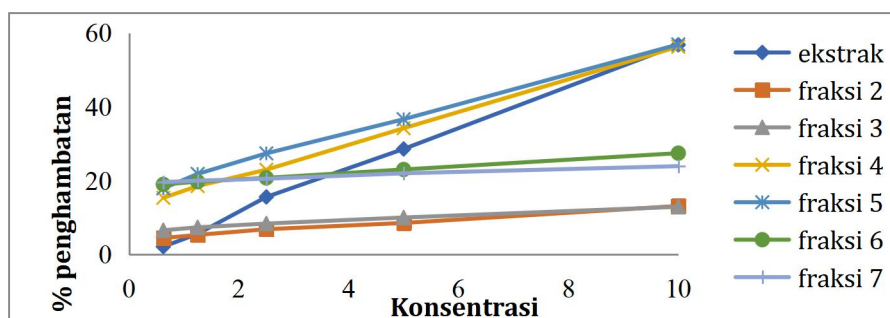


**Gambar 4.** Hasil KLT ekstrak dan fraksi benalu setelah disemprot dengan DPPH

**Tabel 2.** Hasil pengujian kualitatif senyawa pada ekstrak dan fraksi daun benalu

Golongan senyawa	Ekstrak	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	+	-	-	+	+	+	+
Alkaloid	-	-	-	-	-	-	-
Antioksidan	+	+	+	+	+	+	+

Hasil pengujian kandungan senyawa kimia tampak bahwa ekstrak dan fraksi mengandung senyawa antioksidan, oleh karenanya pengujian dilanjutkan dengan perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak dan semua fraksi. Korelasi dosis dengan persen penghambatan dapat dilihat pada Gambar 5 dengan nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada Tabel 3. Nilai  $IC_{50}$  yang semakin kecil menunjukkan kemampuan dalam menghambat semakin besar begitupula sebaliknya. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak sebelum difraksinasi rendah, yang menunjukkan aktivitas antioksidannya sangat kuat. Ekstrak tersebut setelah difraksinasi menjadi 7 fraksi menyebabkan salah satu fraksi mempunyai nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah yaitu pada fraksi 4 dan 5. Hal ini menunjukkan bahwa proses pemisahan senyawa menyebabkan meningkatnya aktivitas antioksidan.

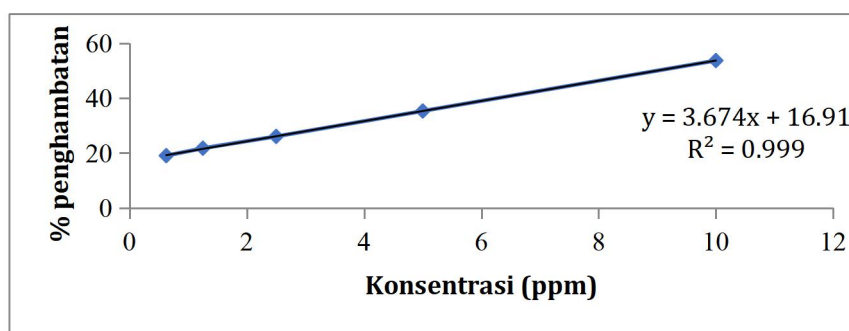
**Gambar 5.** Grafik konsentrasi (x) dengan persen penghambatan (y) ekstrak dan fraksi daun benalu

Berdasarkan Tabel 3, terlihat bahwa fraksi dengan aktivitas antioksidan tertinggi adalah fraksi 5 dan nilainya lebih rendah daripada ekstrak kasarnya (ekstrak sebelum fraksinasi). Hal ini kemungkinan karena senyawa aktif antioksidan ditemukan terbanyak pada fraksi 5 dan aktivitasnya lebih baik ketika lebih murni. Fraksi 5 berdasar pengujian kandungan kimia yang dilakukan sebelumnya, mengandung senyawa flavonoid dan tannin.

Aktivitas antioksidan kuersetin juga dihitung pada penelitian ini sebagai pembandingan seperti yang terlihat pada Gambar 6. Nilai  $IC_{50}$  kuersetin berdasarkan persamaan garis yang didapatkan adalah sebesar  $1,126 \pm 0,018$  ppm. Kuersetin merupakan salah satu senyawa flavonoid yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Ozgen *et al.*, 2016).

**Tabel 3.** Persamaan regresi linier dan nilai IC<sub>50</sub> (ppm) ekstrak dan fraksi daun benalu

Sampel	Persamaan regresi linier	IC <sub>50</sub> (ppm) rata-rata ± SD
Ekstrak etanol	$y = 5,79x - 0,701; r^2 = 0,997$	8,759 ± 0,149
Fraksi 2	$y = 0,898x + 4,195; r^2 = 0,994$	51,100 ± 2,607
Fraksi 3	$y = 0,657x + 6,512; r^2 = 0,989$	67,091 ± 9,566
Fraksi 4	$y = 4,348x + 12,60; r^2 = 0,999$	7,569 ± 0,693
Fraksi 5	$y = 4,065x + 16,36; r^2 = 0,998$	7,211 ± 0,072
Fraksi 6	$y = 0,893x + 18,52; r^2 = 0,999$	35,814 ± 4,947
Fraksi 7	$y = 0,460x + 19,42; r^2 = 0,992$	66,631 ± 3,790

**Gambar 6.** Grafik konsentrasi (x) dengan persen penghambatan (y) kuersetin

Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, namun beberapa senyawa flavonoid dapat beraktivitas sebagai prooksidan (Pietta, 2000; Prochazkova *et al.*, 2011). Sedangkan senyawa tannin diketahui sebagai kelompok senyawa yang juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC<sub>50</sub> dibawah 20 ppm (Wafa *et al.*, 2016). Oleh karena itu, kedua kelompok senyawa diduga merupakan senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antioksidan fraksi 5.

Aktivitas antioksidan fraksi 5 apabila dibandingkan dengan kuersetin memiliki aktivitas yang jauh lebih rendah. Hal ini kemungkinan karena kuersetin merupakan senyawa murni, sedangkan fraksi masih mengandung beberapa senyawa. Kandungan senyawa dalam fraksi dapat dilihat dari hasil pemisahan senyawa menggunakan KLT pada Gambar 1-3. Pada Gambar 1-3 tampak bahwa fraksi 5 memiliki lebih dari satu spot yang kemungkinan jenis senyawanya berbeda. Pemisahan senyawa pada fraksi 5 diduga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari fraksi 5. Hal ini juga didukung dari hasil penelitian ini yang menunjukkan aktivitas antioksidan fraksi lebih tinggi daripada ekstraknya, sehingga kemungkinan senyawa aktif bekerja lebih kuat ketika dalam bentuk tunggal.

Pemisahan fraksi 5 menjadi sub fraksi dapat dilakukan dengan KCV atau KLT-P. Sub fraksi yang didapat kemudian dapat dibandingkan aktivitasnya. Sub fraksi dengan aktivitas tertinggi kemungkinan mengandung senyawa aktif antioksidan. Seperti yang sudah dibahas sebelumnya, kemungkinan senyawa aktif adalah golongan flavonoid dan tannin. Senyawa yang termasuk ke dalam golongan senyawa tersebut sangat banyak, sehingga penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif antioksidan pada fraksi 5 ini. Apabila dilihat dari pelarut fraksi 5 yang merupakan etil asetat: metanol (30:20), maka dugaan terkait senyawa aktif antioksidan mengarah kepada senyawa dengan sifat semipolar yang diduga termasuk ke dalam kelompok tannin atau flavonoid.

#### 4. Kesimpulan

Aktivitas antioksidan tertinggi adalah fraksi 5 dengan nilai  $IC_{50}$  7,211  $\pm$  0,072 dan nilainya melebihi aktivitas antioksidan ekstrak kasarnya, sehingga diduga senyawa aktif antioksidan terdapat dalam fraksi 5. Senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa flavonoid dan atau tannin yang bersifat semipolar serta diduga memiliki aktivitas lebih baik dalam bentuk tunggalnya.

#### Daftar pustaka

- Anshory, H., Suparmi, & A.S., T. (2006). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap penangkapan radikal bebas DPPH. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1).
- Artanti, N., Widayati, R., & Fajriahetno, S. (2009). Aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak Air dan etanol daun benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) yang tumbuh pada berbagai inang. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 11(1).
- Fitrilia, T. (2015). Ekstrak daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) sebagai agen antioksidan dan antidiabetes secara in vitro. Institut Pertanian Bogor.
- Mistriyani, Riyanto, S., & Rohman, A. (2018). Antioxidant activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L) peel in vitro. *Food Research*, 2(1), 119–123.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Ozgen, S., Kilinc, O. K., Selamoglu, Z., Oksidatif, K., Flavonoidler, S., & Bitki, A. (2016). Antioxidant activity of quercetin: a mechanistic review kuersetinin antioksidan aktivitesi: mekanik bir derleme. *Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi / Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology*, 4(412), 1134–1138.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042.
- Pitojo, S., & Puspita, H. N. (2007). *Seri Budi Daya Kesemek*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513–523. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>
- Wafa, N., Sofiane, G., & Mouhamed, K. (2016). The antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids and tannins extracted from *Phlomis bovei* De Noé. *Pelagia Research Library European Journal of Experimental Biology*, 6(3), 55–61.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.



Youngson, R. (2005). *Antioksidan: manfaat vitamin C dan E bagi kesehatan* (S. Purwoko & L. Juwono, Eds.). Jakarta: Penerbit Arcan.

## Effects of vitamin C and E on the stability of epigallocatechin gallate (EGCG) in the ethyl acetate fraction of green tea (*Camellia sinensis* L.) leaf

### Efek vitamin C dan E terhadap stabilitas epigalokatekin galat (EGCG) pada fraksi etil asetat daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.)

Naniek Widyaningrum\*, Titiek Sumarwati, Waode Sitti Sukryana

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung, Semarang

\*Corresponding Author. Email: [naniek@unissula.ac.id](mailto:naniek@unissula.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** Green tea leaves (*Camellia sinensis* L.) have the highest metabolite content, epigallocatechin gallate (EGCG). Naturally, this compound susceptible oxidizes and becomes unstable when stored. Therefore, it is necessary to add natural antioxidants, such as vitamin C and vitamin E.

**Objective:** To determine the effects of adding vitamin C, vitamin E, and a combination of both on the stability of EGCG in the ethyl acetate fraction of green tea leaves.

**Method:** Green tea leaf extract was put in decoction process at 90°C for 30 minutes. Extract was given vitamin C, vitamin E and a combination of both stored on day 0 and day 15 at 2°C. Then fractionation was using ethyl acetate. EGCG levels were tested using HPLC. Data analysis was using One Way Anova with a 95% confidence level.

**Results:** The ethyl acetate fraction of green tea leaf added with vitamin C produced higher EGCG levels than vitamin E, and combination of both vitamins significantly ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Adding vitamin C and E could maintain the stability of EGCG content.

**Keywords:** *Camellia sinensis* L., EGCG, vitamin C, vitamin E, stability

#### Intisari

**Latar belakang:** Daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) memiliki kandungan metabolit epigalokatekin galat (EGCG) tertinggi. Senyawa ini rentan mengalami oksidasi sehingga tidak stabil ketika disimpan. Oleh karena itu, perlu ditambahkan dengan antioksidan alami, seperti vitamin C dan vitamin E.

**Tujuan:** Untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C, vitamin E dan kombinasi kedua vitamin terhadap stabilitas EGCG pada fraksi etil asetat daun teh hijau.

**Metode:** Simplisia daun teh hijau didekoktasi 90°C selama 30 menit. Hasil ekstraksi diberi vitamin C, vitamin E dan kombinasi keduanya yang disimpan pada hari ke-0 dan hari ke-15 pada suhu 2°C. Kemudian fraksinasi dilakukan menggunakan etil asetat. Pengujian kadar EGCG menggunakan HPLC. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dengan taraf kepercayaan 95%.

**Hasil:** Fraksi etil asetat daun teh hijau yang ditambah vitamin C dapat menghasilkan kadar EGCG lebih tinggi dibanding vitamin E dan kombinasi vitamin C dan vitamin E secara signifikan ( $p < 0,05$ ).

**Kesimpulan:** Penambahan vitamin C dan E mampu menjaga stabilitas kandungan EGCG.

**Kata kunci:** *Camellia sinensis* L., EGCG, vitamin C, vitamin E, Stabilitas

---

## 1. Pendahuluan

Teh hijau (*Camellia sinensis* L.) mengandung metabolit sekunder *catechin* dengan *epigallocatechin gallate* (EGCG) sebagai kandungan utama (36%). Komponen lain yang terkandung, antara lain *epigallocatechin* (24%), *epicatechin* (13%), *gallocatechin* (4%), *gallocatechin gallate* (1%), dan *epicatechin gallate* (1,8%) (Tiwari, *et al.*, 2011). EGCG diketahui mempunyai beberapa manfaat, seperti sebagai antioksidan, antimikroba, dan antiakne. Metabolit ini rentan sekali mengalami oksidasi sehingga tidak stabil saat disimpan. Berdasarkan

studi oleh Bianchi, *et al.* (2011), EGCG akan mengalami penurunan kadar hingga 85% ketika terkena sinar radiasi selama 1 jam. Widyaningrum, *et al.*, (2015) menyatakan bahwa EGCG dapat stabil saat disimpan pada suhu 2°C serta saat ditambahkan *buffer solution* dengan pH 4. Selain itu, menurut Hirun & Roach (2011), EGCG dapat stabil jika berada dalam lingkungan asam. Reaksi oksidasi EGCG terjadi karena adanya polimerasi senyawa fenolik dan stres oksidasi (Tan, *et al.*, 2018). Stres oksidasi dapat dicegah dengan antioksidan. Vitamin C dan E merupakan contoh antioksidan alami yang bersifat asam sehingga diharapkan mampu mengikat radikal bebas yang terbentuk ketika terjadi proses oksidasi dan mencegah terjadinya kerusakan EGCG (Sugihartini, *et al.*, 2016). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C dan E terhadap kestabilan EGCG pada fraksi etil asetat daun teh hijau.

## 2. Metodologi Penelitian

### 2.1. Alat dan bahan

Sampel yang digunakan berupa daun teh hijau sebanyak 5 kg yang diperoleh dari PT. Sari Kemuning Karanganyar Jawa Tengah. Bahan lain yang digunakan yaitu vitamin C (*Sigma-Aldrich*), vitamin E (*Sigma-Aldrich*), larutan dapar pH 4, asam fosfat 0,1% (*Sigma-Aldrich*), metanol (*Sigma-Aldrich*), asetonitril (*Sigma-Aldrich*), trietanolamin (*Merck*), dan aquadest. Alat yang digunakan adalah termometer, *rotary evaporator*, pH meter (*Pyrex*), corong pisah (*Pyrex*), *High Performance Liquid Chromatography/HPLC* (*Shimadzu*).

### 2.2. Prosedur penelitian

#### 2.2.1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman yang akan digunakan berdasarkan ciri fisiologinya seperti daun, bunga, batang serta akar. Determinasi tanaman yang digunakan mengacu pada *Flora of Java*.

#### *Fraksinasi dengan menggunakan etil asetat*

Daun teh hijau dibersihkan, dicuci kemudian dikeringkan dalam lemari pengering simplisia pada suhu 40°C kurang lebih 3-4 hari. Enam puluh gram simplisia daun teh hijau didekoktasi pada suhu 90°C selama 30 menit dengan 1200 mL air suling. Hasil ekstrak kemudian disaring dan didinginkan hingga suhu ekstrak 5°C. Lalu ekstrak diberi tetesan *buffer solution* pH 4 sebagai kontrol positif (+), diberi perlakuan berupa vitamin C hingga pH 4, vitamin E hingga pH 4, atau kombinasi antara vitamin C dan vitamin E hingga pH 4 serta tanpa penambahan senyawa lain sebagai kontrol negatif (-). Ekstrak disimpan pada suhu 2°C untuk diujikan pada hari ke 0 dan hari ke 15. Filtrat difraksinasi dengan 1200 mL etil asetat dan dikentalkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental yang kemudian diuji dengan *moisture balance* (kadar air < 2%) (Widyaningrum, *et al.*, 2015).

Pengukuran hasil rendemen ekstrak menggunakan rumus berikut.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk daun teh hijau}} \times 100\% \quad (1)$$

### 2.2.2. Spesifikasi kadar EGCG dengan menggunakan HPLC

Spesifikasi fraksi etil asetat ekstrak teh hijau dilakukan berdasarkan EGCG. Digunakan sistem HPLC dari metode hasil penelitian Martono & Martono (2013) yaitu dengan fase terbalik dengan sistem elusi isokratik.

#### 2.2.2.1. Pembuatan fase gerak sistem HPLC

Fase gerak yang digunakan adalah campuran asam fosfat 0,1%: metanol: asetonitril: air suling dengan perbandingan 14:1:3:7 (v/v/v/v). Air suling yang digunakan sebelumnya disaring dengan membran filter 0,45  $\mu$  setelah keempatnya dicampur kemudian ditambahkan trietanolamin sampai diperoleh pH larutan 4.

#### 2.2.2.2. Pembuatan larutan induk EGCG

EGCG ditimbang sebesar 25 mg yang kemudian dilarutkan dalam fase gerak 25 mL. Larutan induk ini kemudian digunakan untuk uji linieritas, keberulangan, presisi dan uji kesesuaian sistem.

#### 2.2.2.3. Kondisi HPLC untuk penetapan kadar EGCG

Kondisi yang digunakan dalam penetapan kadar EGCG adalah sampel diinjeksikan dengan volume injeksi 20  $\mu$ L, yang kemudian dielusi dengan menggunakan fase diam C 18. Fase gerak yang digunakan menggunakan kecepatan alir 1,2 mL/menit dan dideteksi dengan detektor spektrofotometer UV pada ( $\lambda$ ) 280 nm (Martono & Martono, 2013).

### Analisis Data

Dari data yang diperoleh di uji normalitas dan homogenitas menggunakan *Shapiro wilk* dan *Levene Test*. Data menunjukkan normal dan homogen ( $p > 0,05$ ) sehingga dilakukan uji *Oneway Anova*. Pada uji *Oneway Anova* terdapat perbedaan yang signifikan sehingga dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

## 3. Hasil dan pembahasan

Determinasi tanaman yang dilakukan bertujuan memastikan kebenaran tanaman yang digunakan. Hasil yang didapatkan teh yang berasal dari PT. Sari Kemuning Karanganyar Jawa Tengah termasuk dalam spesies *Camellia sinensis* L.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode dekotisasi menggunakan pelarut aquadest untuk menyari senyawa aktif EGCG yang terkandung dalam daun teh hijau. Setelah dekotisasi, ekstrak didinginkan hingga suhu 2<sup>o</sup>C selama 30 menit agar kadar EGCG dalam daun teh hijau meningkat. Pada perlakuan tersebut, terjadi perubahan warna ekstrak dari coklat pekat menjadi kuning. Hal ini diduga akibat terjadinya pencegahan polimerisasi senyawa fenolik

(Widyaningrum, *et al.*, 2017). Masing-masing ekstrak diberikan senyawa hingga pH 4 karena diketahui EGCG stabil pada larutan yang bersifat asam dan stabil pada suhu 2<sup>0</sup>C yang disimpan selama 15 hari (Hirun & Roach, 2011). Stabilitas EGCG dilakukan dengan penambahan vitamin C sebesar 7,5 gram sehingga menghasilkan pH 4. Vitamin E diketahui bersifat netral yang memiliki pH 7 dan larut dalam lemak. Namun pada kelompok vitamin E, ekstrak ditambahkan dengan 1 mL HCl pekat untuk mengkondisikan pH menjadi 4 karena sifat EGCG stabil pada kondisi asam dan vitamin E dapat terdispersi dalam ekstrak. Penambahan kombinasi vitamin C dan vitamin E hingga pH 4 digunakan perbandingan 1:1 yaitu 7,5 gram vitamin C dan 7,5 gram vitamin E. Kontrol positif digunakan buffer solution pH 4 karena diketahui dapat menstabilkan kadar EGCG (Widyaningrum, *et al.*, 2017).

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa yang akan diambil. Fraksinasi dilakukan menggunakan etil asetat agar turunan katekin yang terdapat didalam daun teh hijau dapat larut dalam asetil asetat yang sifatnya semi polar. Aquadest yang bersifat polar dapat mengambil senyawa karbohidrat dan protein yang juga bersifat polar. Setelah itu, dilakukan evaporasi untuk menghilangkan pelarutnya dan yang tersisa hanyalah senyawa turunan katekin. Pemekatan dilakukan menggunakan rotari evaporator pada suhu 50<sup>0</sup>C dengan kecepatan 120rpm.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran kadar EGCG pada fraksi etil asetat ekstrak daun teh hijau dengan diberi perlakuan pada hari ke-0 dan hari ke-15

Perlakuan	Hari ke-0 (%w/w)	Rata-rata (%w/w)	Hari ke-15 (%w/w)	Rata-rata (%w/w)	Keterangan
Vitamin C	20,79	19,50	23,63	23,82	Meningkat
	18,21		24,01		
	19,50		23,82		
Vitamin E	20,90	19,04	23,68	23,56	Meningkat
	17,19		23,45		
	19,04		23,56		
Kombinasi	14,08	13,08	16,45	15,98	Meningkat
	12,08		15,47		
	13,08		15,98		
Kontrol (+)	22,15	21,73	29,47	29,04	Meningkat
	21,32		28,62		
	21,73		29,04		
Kontrol (-)	13,98	15,56	11,45	13,65	Menurun
	19,14		15,85		
	15,56		13,65		

Spesifikasi kadar EGCG dilakukan pengujian menggunakan metode HPLC untuk melihat besar kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam serbuk fraksi. Hasil pengukuran kadar EGCG yang disimpan pada hari ke-0 dan hari ke-15 disajikan pada tabel 1. Kadar EGCG pada ekstrak dengan penambahan vitamin C hingga pH 4 yang disimpan pada hari ke-0 yaitu 19,50%w/w sedangkan kadar EGCG yang disimpan pada hari ke-15 sebesar 23,82%w/w. Hal

ini terjadi karena vitamin C bersifat polar, larut dalam air dan vitamin C juga sebagai antioksidan yang berada dalam fase yang sama dengan EGCG yaitu fase air sehingga EGCG dapat terlindung oleh pengaruh oksidasi karena keberadaan vitamin C.

Kadar EGCG dengan penambahan vitamin E hingga pH 4 pada hari ke-0 yaitu 19,04 %w/w sedangkan kadar yang disimpan pada hari ke-15 yaitu 23,56%w/w. Peningkatan kadar EGCG tidak terlalu tinggi dibanding vitamin C karena sifat vitamin E relatif nonpolar dan berbeda fase dengan EGCG. Disamping itu, vitamin E juga memiliki sifat mudah mengalami fotolisis atau pelisisan senyawa kimia dengan bantuan sinar (Tiburcio-Moreno, *et al.*, 2012). Penelitian ini didukung oleh Sugihartini, *et al.* (2016) tentang stabilitas EGCG dalam krim ekstrak teh hijau dengan variasi konsentrasi antioksidan vitamin C 1% dan vitamin E 1%. Dengan penambahan vitamin C 1%, kadar EGCG lebih tinggi dibandingkan dengan krim ekstrak daun teh hijau yang ditambahkan dengan vitamin E 1%.

Kadar EGCG dengan penambahan kombinasi vitamin C dan vitamin E hingga pH 4 yang disimpan pada hari ke-0 yaitu sebesar 13,08 %w/w sedangkan kadar EGCG yang disimpan pada hari ke-15 yaitu 15,98 %w/w. Hal ini menunjukkan terjadi peningkatan kadar EGCG ketika disimpan pada hari ke-15 namun memiliki kadar yang lebih rendah. Kadar EGCG tertinggi diperoleh dari kelompok perlakuan yang diberikan vitamin C hingga pH 4. Hal ini didukung oleh penelitian bahwa EGCG stabil ketika disimpan pada suhu 2<sup>o</sup>C selama 15 hari dan stabil pada larutan yang bersifat asam (Hirun & Roach, 2011).

Senyawa EGCG yang terdapat didalam daun teh hijau diketahui mudah mengalami oksidasi. Vitamin C dan E sebagai antioksidan alami dapat mencegah terjadinya oksidasi pada suatu senyawa. Pada uji *Oneway anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kadar EGCG yang ditambah vitamin C, vitamin E dan kontrol (+) ketika disimpan pada hari ke-15. Hal ini menunjukkan kadar EGCG stabil selama penyimpanan. Pada kontrol (-) dan kombinasi vitamin C dan vitamin E ketika disimpan pada hari ke-15 tidak terdapat perbedaan yang signifikan atau hasil yang diperoleh tidak stabil dan memiliki kadar EGCG yang rendah. Hal ini dimungkinkan adanya interaksi antara vitamin C dan vitamin E. Menurut penelitian Rukmiasih, *et al.*, (2010) tentang penggunaan beluntas, vitamin C dan vitamin E sebagai antioksidan untuk menurunkan *off-odor* (25%) yang mana ketika dikombinasikan maka akan menyebabkan vitamin C tidak memiliki kesempatan membentuk senyawa dengan Fe<sup>++</sup> atau prooksidan tetapi lebih banyak berfungsi untuk memperbaharui vitamin E. Hal ini menyebabkan tujuan penggunaan kombinasi vitamin C dan vitamin E untuk melindungi asam lemak tidak jenuh yang mudah mengalami oksidasi tidak tercapai bahkan sebaliknya lebih banyak teroksidasi sehingga kadarnya rendah. Oleh karena itu dari hasil penelitian ketika dikombinasikan vitamin C dan vitamin E yang disimpan pada hari ke-0 dan hari ke-15 terjadi penurunan kadar EGCG atau memiliki kadar EGCG yang rendah dan tidak stabil.

#### 4. Kesimpulan

Penambahan vitamin C dan vitamin E dapat menstabilkan kandungan *Epigallocatechin gallate* (EGCG).

#### Daftar pustaka

- Bianchi, A., Marchetti, N., & Scalia, S. (2011). Photodegradation of (-)-epigallocatechin-3-gallate in topical cream formulations and its photostabilization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56(4), 692–697.
- Hirun, S., & Roach, P. D. (2011). An improved solvent extraction method for the analysis of catechins and caffeine in green tea. *Journal of Food and Nutrition Research*, 50(3), 160–166.
- Martono, Y., & Martono, S. (2013). Analisis kromatografi cair kinerja tinggi untuk penetapan kadar asam galat, kafein dan epigalokatekin galat pada beberapa produk teh celup. *Agritech*, 32(04), 362–369.
- Rukmiasih, PS, H., PP, K., & PR, M. (2010). Penggunaan beluntas, vitamin C dan E sebagai antioksidan untuk menurunkan off-odor (25%) daging itik Alabio dan Cihateup. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 15(2), 101–109.
- Sugihartini, N., Susanti, H., Zaenab, Hanifah, H., & Marlina, S. A. (2016). Stability of epigallocatekin galat in green tea extract cream with variation of antioxicide vitamin C 1% and vitamin E 1%. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 13(2), 52–56.
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W. P. P., & Rahman, H. S. (2018). Antioxidant and oxidative stress: a mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9(OCT), 1–28.
- Tiburcio-Moreno, J. A., Marcelín-Jiménez, G., Leanos-Castaneda, O. L., Yanez-Limon, J. M., & Alvarado-Gil, J. J. (2012). Study of the photodegradation process of vitamin e acetate by optical absorption, fluorescence, and thermal lens spectroscopy. *International Journal of Thermophysics*, 33(10–11), 2062–2068.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutic Scientia*, 1(1), 98–106.
- Widyaningrum, N., Fudholi, A., Sudarsono, & Setyowati, E. P. (2015). Stability of Epigallocatechin Gallate (EGCG) from Green Tea (*Camellia sinensis*) and its Antibacterial Activity against *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 and *Propionibacterium acnes* ATCC 6919. *Asian Journal of Biological Sciences*, 8(2), 93–101.

## Antioxidant activity of Sumbawa red seaweed (*Eucheuma cottonii*) extract and lemon peel (*Citrus limon* L) extract combination

### Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa dan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* L)

Dwi Kurniawati Sambodo

Program Studi D3 Farmasi, Stikes Surya Global Yogyakarta  
Corresponding author. Email: antarezaman@gmail.com

---

#### Abstract

**Background:** High exposure of free radicals have negative impact on the health and aesthetics of the skin, especially facial skin, especially when directly exposed without any protection. The human body needs antioxidants in sufficient quantities to reduce the negative effects of free radicals. *Eucheuma cottonii* and *Citrus limon* L have potential bioactive compounds as antioxidants.

**Objective:** This study was conducted to determine the antioxidant activity of combination *Eucheuma cottonii* Sumbawa methanol extract and *Citrus limon* peel methanol extract.

**Method:** Red seaweed and lemon peel were extracted using maceration method with methanol as solvent. Antioxidant activity test used DPPH method with DPPH color reduction and IC<sub>50</sub> parameters.

**Results:** Methanol extract of EC, CLI, and their combination have antioxidant activity as indicated by the fading color of DPPH solution. The highest IC<sub>50</sub> was obtained by methanol extract of lemon peel, and the lowest was achieved by combination 1:2. Combination Index of combination both extract have synergistic effect for 1:1, and 1:2, and intermediate antagonist for 2:1.

**Conclusion:** The combination of Sumbawa *Eucheuma cottonii* extract and *Citrus limon* L peel extract has antioxidant activity, with a synergistic effect (1:1, 1:2) and intermediate antagonistic effects (2:1).

**Keywords :** antioxidant activity, *Eucheuma cottonii* L, *Citrus limon* L, DPPH, IC<sub>50</sub>

#### Intisari

**Latar belakang:** Tingginya paparan radikal bebas saat ini berdampak negatif pada kesehatan dan estetika kulit, terutama kulit wajah, terutama saat langsung terpapar tanpa adanya pelindung. Tubuh manusia membutuhkan antioksidan dalam jumlah yang cukup agar dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas. *Eucheuma cottonii* dan *Citrus limon* L memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan.

**Tujuan:** Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak metanol *Eucheuma cottonii* Sumbawa (EMEC) dan ekstrak metanol kulit *Citrus limon* L (EMCL).

**Metode:** Rumput laut merah dan kulit jeruk lemon dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan parameter peredaman warna DPPH dan IC<sub>50</sub>.

**Hasil:** Ekstrak metanol tunggal EC, CL, dan kombinasi EMEC:EMCL memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan memudarnya warna larutan DPPH. IC<sub>50</sub> tertinggi diperoleh dari ekstrak tunggal kulit jeruk lemon dan yang terendah dari kombinasi EMEC dan EMCL dengan perbandingan 1:2. *Combination Index* EMECS : EMCLI (1:1; 2:1; 1:2) berturut-turut menunjukkan efek sinergis; antagonis menengah; dan sinergis untuk kombinasi kedua ekstrak tersebut.

**Kesimpulan:** Kombinasi ekstrak *Eucheuma cottonii* Sumbawa dan ekstrak metanol *Citrus limon* L memiliki aktivitas antioksidan, yang memiliki efek sinergis dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan efek antagonis menengah dengan perbandingan 2:1.

**Kata kunci :** aktivitas antioksidan, *Eucheuma cottonii*, *Citrus limon* L, DPPH, IC<sub>50</sub>

---



## 1. Pendahuluan

Tingginya paparan radikal bebas saat ini berdampak negatif pada kesehatan dan estetika kulit, terutama kulit wajah karena langsung terpapar dengan lingkungan tanpa adanya pelindung seperti bagian tubuh lainnya (Winarsi, 2007). Radikal bebas dalam tubuh paling banyak berasal dari oksigen yang disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS), terbentuk karena stress oksidatif dan sangat penting dalam proses penuaan (Wlaschek, *et al.*, 2001). Pada negara maju ataupun berkembang, angka harapan hidup semakin meningkat. Di Amerika Serikat, diperkirakan 31% populasi berusia 55 tahun atau lebih tua pada tahun 2030 (Yaar & Gilchrest, 2007) dan jumlah penduduk usia lanjut akan menjadi dua kali lipat atau tiga kali lipat selama awal kuartal pertama pada abad ke-21 (Smith, *et al.*, 2001). Di Indonesia, menurut data Badan Pusat Statistik, pada periode tahun 2000-2005, angka harapan hidup penduduk Indonesia laki-laki dan perempuan adalah 67,8 tahun, sedangkan pada periode 2020-2025 meningkat menjadi 73,6 tahun (Badan Pusat Statistik, 2012). Hal ini mendorong semakin meningkatnya ketertarikan dan kepedulian orang terhadap usaha-usaha memperlambat proses penuaan (Yaar & Gilchrest, 2007).

Tubuh manusia membutuhkan substansi yang penting yaitu antioksidan dalam jumlah yang cukup agar dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas. Antioksidan yang terkandung dalam rumput laut dapat dimanfaatkan untuk menangkal radikal bebas. Rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) mengandung pigmen fotosintesis dan pigmen lainnya yaitu  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, fikofibilin, neoxantin, dan zeaxantin yang memiliki potensi antioksidan. Diketahui bahwa  $IC_{50}$  karagenan kappa dari *Eucheuma cottonii*  $0,112 \pm 0,003$  mg/mL terhadap radikal superoksida,  $0,335 \pm 0,016$  mg/mL terhadap radikal hidroksil, dan  $0,323 \pm 0,011$  mg/mL terhadap lipid peroksida (Rocha De Souza, *et al.*, 2007).

Hasil penelitian Chew, *et al.* (2008) juga membuktikan bahwa ekstrak metanol 50% *Eucheuma cottonii* menunjukkan aktivitas antioksidan  $IC_{50}$  sebesar  $11,87 \pm 5,7$  mg/mL. Dolorosa, *et al.* (2017) juga melaporkan bahwa bubuk *Eucheuma cottonii* mengandung vitamin C 15,95 mg/kg dan vitamin E 0,23 mg/kg dengan nilai  $IC_{50}$  130,62 ppm. Jeruk lemon juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung vitamin C, asam sitrat, minyak atsiri, bioflavanoid, polifenol, kumarin, flavanoid, dan minyak-minyak volatil pada kulitnya seperti limonen ( $\pm 70\%$ ),  $\alpha$ -terpinen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, serta kumarin dan polifenol (Prabajati, *et al.*, 2017). Penelitian Krisnawan, *et al.* (2017) menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah lemon Australia ( $EC_{50}$  269,38 bpj) memiliki potensi antioksidan lebih tinggi dari pada lemon lokal ( $EC_{50}$  1002,57 bpj). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol rumput laut merah Sumbawa dan ekstrak kulit buah jeruk lemon dan diharapkan dapat bekerja sinergis dalam menangkal radikal bebas yang bersifat degeneratif dan menyebabkan berbagai masalah kelainan kulit.

## 2. Metodologi penelitian

### 2.1 Penyiapan sampel

Rumput laut merah diperoleh dari Kecamatan Moyo Hilir Kabupaten Sumbawa NTB dan lemon diperoleh dari supermarket.

### 2.2 Ekstraksi rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*)

Sampel *E. cottonii* diperoleh sudah dalam keadaan kering, kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang masih tersisa. Sampel yang akan digunakan dikering anginkan dan dipotong untuk mempermudah proses ekstraksi. Sebanyak 500 gram sampel dimaserasi menggunakan 3 L pelarut metanol sambil diaduk setiap hari selama 5 hari dalam wadah kaca tertutup dan terlindung cahaya matahari. Kemudian sari metanol disaring menggunakan kertas saring dan disimpan sebagai maserat pertama. Residu yang didapatkan diremaserasi dengan pelarut yang sama selama 5 hari sehingga didapatkan maserat kedua. Maserat pertama dan kedua di campur dan diuapkan dengan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental rumput laut (Zulkarya & Hastuti, 2018).

### 2.3 Ekstraksi kulit buah jeruk lemon

Ekstrak kulit buah diperoleh dengan cara pemisahan kulit dari daging buah, pengeringan kulit buah dengan diangin-anginkan, pengecilan ukuran, pengayakan, kemudian dilakukan ekstraksi dengan cara metode maserasi. Ekstraksi maserasi kinetik dilakukan selama 1 jam dengan pelarut metanol kemudian didiamkan selama 24 jam dan dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Hasil dari ekstraksi dipisahkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* (Krisnawan, *et al.*, 2017).

### 2.4 Uji aktivitas antioksidan

Pengujian kualitatif dilakukan menggunakan reaksi warna dengan pembuatan beberapa konsentrasi larutan uji yang akan direaksikan dengan larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dalam metanol yang berwarna ungu. Kemampuan ekstrak meredam radikal bebas DPPH dilihat dari warna larutan yang berubah dari ungu menjadi semakin memudar. Uji kuantitatif metode DPPH dengan metode spektrofotometri visibel menggunakan parameter  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi yang efektif untuk menghambat atau meredam 50% jumlah radikal bebas. Metode spektrofotometri visibel terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal DPPH dan penentuan waktu reaksi. Kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm yang akan direaksikan dengan larutan DPPH. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dan perhitungan persen peredaman. Dari hasil uji diperoleh persamaan regresi linier antara konsentrasi dengan persentase peredaman terhadap DPPH, kemudian ditentukan nilai  $IC_{50}$ . Analisis aktivitas antioksidan kombinasi kedua ekstrak menggunakan perangkat lunak CompuSyn dengan nilai *Combination Index* sebagai parameter analisis.

### 3. Hasil dan pembahasan

#### 3.1. Hasil

##### 3.1.1. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan

Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan ekstrak metanol tunggal rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa, ekstrak metanol tunggal kulit jeruk lemon (*Citrus limon* L), kombinasi ekstrak metanol rumput laut merah Sumbawa dan ekstrak metanol kulit jeruk lemon dengan perbandingan 1:1, 2:1, 1:2 dilakukan dengan penambahan larutan radikal DPPH ke dalam larutan uji, kemudian dilihat perubahan warna yang terjadi.

##### 3.1.2. Hasil uji kuantitatif aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ )

Hasil uji kuantitatif aktivitas antioksidan ekstrak metanol tunggal rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa, ekstrak metanol tunggal kulit jeruk lemon (*Citrus limon* L), kombinasi ekstrak metanol rumput laut merah Sumbawa dan ekstrak metanol kulit jeruk lemon dengan perbandingan 1:1, 2:1, 1:2 dihasilkan dari pengukuran radikal bebas DPPH dengan spektrofotometer *visible*. Data hasil aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan

Kelompok	$IC_{50}$ (ppm)
Ekstrak metanol EC (Tunggal)	942,438
Ekstrak metanol CL (Tunggal)	472,335
Kombinasi ekstrak metanol EC dan CL (1:1)	436,607
Kombinasi ekstrak metanol EC dan CL (2:1)	500,094
Kombinasi ekstrak metanol EC dan CL (1:2)	345,514

Keterangan :

EC : *Eucheuma cottonii*, CL : *Citrus limon* L

##### 3.1.3. Hasil analisis aktivitas antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak metanol rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa dan ekstrak metanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* L) menggunakan perangkat lunak CompuSyn dengan nilai *Combination Index* sebagai parameter analisis. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil analisis aktivitas antioksidan

EMEC : EMCLI	CI	Deskripsi
1 : 1	0,596	Sinergis
2 : 1	1,432	Antagonis menengah
1 : 2	0,469	Sinergis

Keterangan

EMEC : Ekstrak Metanol *Eucheuma cottonii*, EMCLI : Ekstrak Metanol *Citrus limon* L, CI : *Combination Index* MMGB

### 3.2 Pembahasan

Ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak perbandingan konsentrasi ekstrak rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa dan kulit buah jeruk lemon (*Citrus limon* L) dengan variasi konsentrasi berturut-turut sebesar 1:1, 2:1, dan 1:2 dengan uji kualitatif memiliki aktivitas

antioksidan yang dapat dilihat dari semakin berkurangnya warna ungu dari larutan DPPH yang sudah ditambahkan dalam sampel. Hal tersebut terjadi karena adanya reaksi antara atom hidrogen yang lepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning (Handayani, *et al.*, 2018).

Menurut Matuszewska, *et al.* (2018), semakin kecil  $IC_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Nilai  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi larutan uji yang dapat memberikan peredaman peredaman terhadap DPPH sebesar 50%, dimana nilai ini digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu bahan uji dengan peredaman radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol tunggal, dan kombinasi EMEC:EMCL (1:1, 2:1, 1:2) memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda satu dengan lainnya. Kombinasi EMEC : EMCL (1:2) memiliki aktivitas antioksidan paling besar sebesar 345,514 ppm, diikuti dengan kombinasi ekstrak 1:1 sebesar 436,607 ppm, ekstrak tunggal CL sebesar 472,335 ppm, kombinasi ekstrak 2:1 sebesar 500,094, sedangkan yang memiliki aktivitas antioksidan paling rendah adalah ekstrak tunggal EC sebesar 942,438 ppm. Hal ini semakin besar konsentrasi CL dalam kombinasi maka semakin besar aktivitas antioksidannya, sebaliknya semakin besar konsentrasi EC dalam kombinasi maka semakin kecil antioksidan yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan perbandingan bahwa CL tunggal memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan EC tunggal.

Berdasarkan analisis aktivitas antioksidan menggunakan perangkat lunak CompuSyn, EMEC dan EMCL (1:1, 1:2) memberikan efek sinergis bila dikombinasikan. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi keduanya meningkatkan aktivitas antioksidan dari salah 1 atau kedua ekstrak yang dikombinasikan. Kombinasi EMEC dan EMCL (1:2) memberikan efek antagonis menengah yang menunjukkan bahwa kombinasi keduanya memberikan efek penurunan antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH. Efek sinergis dan antagonis menengah yang terjadi diduga karena adanya interaksi antara senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Menurut Hidayat, *et al.* (2014), pada tanaman obat selain zat aktif sebagai komponen utama yang paling berpengaruh, masih terdapat senyawa-senyawa sampingan lain yang mungkin dapat mempengaruhi respon yang diharapkan.

#### **4. Kesimpulan**

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak *Eucheuma cottonii* Sumbawa dan ekstrak metanol *Citrus limon* L memiliki aktivitas antioksidan, yang memiliki efek sinergis dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan efek antagonis menengah dengan perbandingan 2:1.

## Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada LLDIKTI yang telah membiayai penelitian ini dan STIKES Surya Global Yogyakarta yang telah mendukung penelitian ini.

## Daftar pustaka

- Chew, Y. L., Lim, Y. Y., Omar, M., & Khoo, K. S. (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1067–1072.
- Dolorosa MT, Nurjanah, Purwaningsih S, A. E. dan H. T. (2017). Kandungan senyawa bioaktif bubuk rumput laut *Sargassum plagyophyllum* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim pencerah kulit. *Jphpi*, 20(3), 633–644.
- Handayani, G. N., Umar, I., & Ismail, I. (2018). Formulasi dan uji efektivitas antioksidan krim ekstrak etanol daun Botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Kesehatan*, 11(2), 86.
- Hidayat, M., Soeng, S., Prahastuti, S., Patricia, T.H. dan Yonathan, K. . (2014). Aktivitas antioksidan dan antitrigliserida ekstrak tunggal kedelai, daun Jati Belanda serta kombinasinya. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik*, 16(2), 89–94.
- Krisnawan, A. H., Budiono, R., Sari, D. R., & Salim, W. (2017). Potensi antioksidan ekstrak kulit dan perasan daging buah lemon (*Citrus lemon*) lokal dan impor. *Prosiding seminar nasional 2017 Fakultas Pertanian UMJ "Pertanian dan tanaman herbal berkelanjutan di Indonesia,"* 30–34.
- Matuszewska, A., Jaszek, M., Stefaniuk, D., Ciszewski, T., & Matuszewski, Ł. (2018). Anticancer, antioxidant, and antibacterial activities of low molecular weight bioactive subfractions isolated from cultures of wood degrading fungus *Cerrena unicolor*. *PLoS ONE*, 13(6), 1–14.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(November 2003), 211–219.
- Prabajati, R., Hernawan, I., & Hendarti, H. T. (2017). Effects of citrus limon essential oil (*Citrus limon* L.) on cytomorphometric changes of *Candida albicans*. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 50(1), 43.
- Rocha De Souza, M. C., Marques, C. T., Guerra Dore, C. M., Ferreira Da Silva, F. R., Oliveira Rocha, H. A., & Leite, E. L. (2007). Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 19(2), 153–160.
- Smith, E. S., Fleischer, A. B., & Feldman, S. R. (2001). Demographics of aging and skin disease. *Clinics in Geriatric Medicine*, 17(4), 631–641. [https://doi.org/10.1016/S0749-0690\(05\)70090-2](https://doi.org/10.1016/S0749-0690(05)70090-2)
- Badan Pusat Statistik (2012). Statistik Indonesia 2011.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan alami dan radikal bebas: Potensi dan aplikasi*.
- Wlaschek, M., Tanchcheva-poor, I., Naderi, L., Ma, W., Schneider, L. A., Razi-wolf, Z., Schuller, J., Scharffetter-kochanek, K. (2001). Solar UV irradiation and dermal photoaging. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 63(1–3), 41–51.
- Yaar, M., & Gilchrist, B. A. (2007). Photoageing: Mechanism, prevention and therapy. *British Journal of Dermatology*, 157(5), 874–887.
- Zulkarya, L. G., & Hastuti, E. D. (2018). Formulasi sediaan krim ekstrak etanol rumput laut coklat (*Padina australis*) dan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(1), 81–87.