UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI DAUN LENGKUAS MERAH *(Alpinia purpurata K.schum)* MENGGUNAKAN METODE DPPH

PROPOSAL

OLEH:

META HARLEVI

22151044

YAYASAN AL FATHAH

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL-FATAH

KOTA BENGKULU

TAHUN AJARAN 2025

LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN PROPOSAL KARYA

TULIS ILMIAH

Proposal Karya Tulis Ilmiah Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Diploma III Farmasi (A.Md.Farm)

Ujian Diploma (DIII) Farmasi Sekolah Tinggi Kesehatan AL Fathah Bengkulu

Yayasan AL-Fathah

Disetujui oleh:

Pembimbing I	**Pembimbing II**
Yuska Noviyanty, M.Farm.,Apt	**Herlina, S.Si.,M.Si**
NIDN: 0212118202	**NIDN: 0201058502**

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti ucapkan kehadirat Allah SWT, karena atas berkat dan karunianya peneliti dapat menyusun Proposal Karya Tulis Ilmiah dengan judul "Uji Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Daun Lengkuas Merah *(Alpinia Purpurata K.schum)*" sebagai salah satu syarat memperoleh gelar diploma III Farmasi di program studi D3 Farmasi Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Kota Bengkulu.

Dalam proses penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini peneliti banyak mendapatkan bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini peneliti menyampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

1. Ibu Yuska Noviyanti, M.,Farm.,Apt selaku pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam menyusun proposal ini.
2. Ibu Herlina,S.Si.,M.Si selaku pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya.
3. Ibu Yuska Noviyanti, M.,Farm., Apt selaku Ketua Yayasan Stikes Al-Fatah Bengkulu.
4. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku Ketua Yayasan Stikes Al-Fatah Bengkulu.

5. Para dosen dan staf karyawan Stikes Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Stikes Al-Fatah Bengkulu.
6. Rekan-rekan seangkatan di Stikes Al-Fatah Bengkulu yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun, supaya penulis dapat memperbaiki kesalahan ini. Akhir kata penulis ucapkan terimakasih dan semoga penelitian ini bisa bermanfaat bagi penulis dan dosen, rekan-rekan sekalian, civitas akademik dan serta para pembaca dimanapun berada.

Bengkulu, 29 November 2024

Meta Harlevi

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN PROPOSAL ..... **ii**
KATA PENGANTAR ..... **iii**
DAFTAR ISI ..... **v**
DAFTAR GAMBAR ..... **vii**
DAFTAR TABEL ..... **viii**
BAB I **1**
PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Batasan Masalah 3
1.3 Rumusan Masalah 3
1.4 Tujuan Penelitian 4
1.5 Manfaat Penelitian 4
1.5.1 Bagi Akademik 4
1.5.2 Bagi Peneliti 4
1.5.3 Bagi Masyarakat 4
BAB II **5**
TINJAUAN PUSTAKA **5**
2.1 Kajian Teori 5
2.1.1 Tanaman daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* 5
2.1.2 Oksidan dan Antioksidan 11
2.1.3 Sumber-sumber Antioksidan 13
2.1.4 Penggolongan Antioksidan 13
2.1.5 Ekstrak 14
2.1.6 Skrining Fitokimia 19
2.1.7 Fraksinasi 22

2.1.8 Metode 1,1-diphenyl-2-pircylhydrazil (DPPH) 23
2.1.9 Aktivitas Antioksidan Dalam Bentuk IC50 25
2.1.10 Spektrofotometri UV-VIS 25
2.1.11 Jenis-Jenis Spektrofotometer 26
2.2 Kerangka Konsep 29
BAB III 30
METODE PENELITIAN 30
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian 30
3.2 Alat dan Bahan Penelitian 30
3.2.1 Alat 30
3.2.2 Bahan 31
3.3 Verifikasi Tanaman 31
3.4 Pengambilan sampel 31
3.5 Pengelolaan sampel 32
3.6 Pembuatan Simplisia 32
3.7 Pembuatan ekstrak 32
3.7.1 Maserasi 32
3.7.2 Fraksinasi 33
3.8 Evaluasi Fraksi Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata K.schum)* 33
3.8.1 Organoleptis 33
3.8.2 Rendemen 33
3.9 Skrining Fitokimia 34
3.10 Pembuatan Larutan DPPH 34
3.11 Pembuatan Larutan Uji Sampel 34
3.12 Penetapan Panjang Gelombang 35
3.13 Penentuan Aktivitas Antioksidan 35
3.14 Analisis Data 35
DAFTAR PUSTAKA 37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum).....5*

Gambar 2. Reduksi DPPH dari senyawa Peredam DPPH…….24

Gambar 3. Diagram Alat Spektrofotometer UV-VIS…….....37

DAFTAR TABEL

Tabel I. Sifat Antioksidan Berdasarkan IC_{50}..... 37

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antioksidan adalah zat yang berfungsi untuk menghentikan reaksi oksidasi akibat radikal bebas. Reaksi ini dapat merusak asam lemak tak jenuh, membrane dinding sel, pembuluh darah basa DNA, dan jaringan lipid, menyebabkan penyakit. Antioksidan, yang memainkan peran penting dalam menjaga kesehatan manusia, dapat ditemukan dalam berbagai bentuk, seperti vitamin, mineral, dan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan. Tubuh menghasilkan banyak radikal bebas dari lingkungan dan pola hidup yang tidak sehat, yang dapat dicegah oleh antioksidan (Nia dan Helda,2016).

Daun lengkuas merah *(Alpinia purpurata K.schum)* sangat dikenal sebagai tanaman herbal dalam pengobatan tradisional dan makanan di berbagai negara Asia, termasuk Indonesia. Tanaman ini adalah anggota keluarga Zingiberaceae, sama seperti jahe dan kunyit. Memberikan rasa yang unik pada berbagai hidangan seperti bumbu dapur, bahan industri minuman, makanan kecil, dan ramuan obat tradisional. Daun lengkuas merah mengandung banyak senyawa bioaktif, termasuk terpenoid, flavonoid, dan polifenol, yang dikenal memiliki sifat antioksidan.Sangat penting untuk melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan ekstak daun ini untuk mengetahui potensi pengobatannya dan kegunaannya dalam pencegahan penyakit Hanani (2019).

Fraksinasi terhadap ekstrak etanol daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* dengan menggunakan pelarut yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya seperti n-heksana, etil asetat dan air, sehingga komponennya lebih sederhana. fraksi n-heksana, fraksi etill asetat dan fraksi air dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui jenis senyawa kimia metabolit sekunder flavonoid yang terkandung disetiap fraksi dari ekstrak etanol daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)*. Dimana pelarut n-heksan digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat non polar, pelarut etil asetat digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat semi polar sedangkan pelarut air digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat polar (Permadi A, et al., 2019).

Pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC50 (Inhibitory Concentration). Nilai IC50 didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC50 maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam (Akram,2017).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Uji Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Daun Lengkuas Merah *(Alpinia Purpurata K.schum)* dengan menggunakan Metode DPPH.

1.2 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)*
2. Metode ekstraksi yang digunakan pada daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)*
3. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Fraksi Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata K.schum)*
4. Fraksinasi metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut aquadest, n-heksana dan etil asetat.
5. Uji Aktivitas Antioksidan dari fraksi daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* menggunakan metode DPPH

1.3 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalalah;

1. Apakah terdapat senyawa Flavonoid yang terkandung dari fraksi daun lengkuas merah (*alpinia purpurata K.schum*) dengan metode DPPH?
2. Bagaimanakah LC50 aktivitas antioksidan fraksi daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* yang diukur dengan metode DPPH?

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui senyawa flavanoid yang terdapat dari fraksi daun lengkuas merah(*alpinia purpurata K.schum*)
2. Mengetahui nilai IC_{50} aktivitas antioksidan fraksi daun lengkuas merah*(alpinia purpurata K.schum)* yang diukur dengan metode DPPH

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Hasil penelitian ini dapat menjadi wawasan dan penambah pengetahuan bagi perkembangan akademik dan dapat digunakan sebagai referensi.

1.5.2 Bagi Peneliti

Penelitian ini dapat dimamfaatkan dan dijadikan sebuah referensi untuk peneliti selanjutnya dan juga menambah wawasan pengetahuan tentang fraksi dari daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* dengan menggunakan metode DPPH agar dapat dijadikan sebagai informasi untuk penelitian ilmiah selanjutnya.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini memberikan pengetahuan dan informasi kepada masyarakat bahwa didalam fraksi daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* dapat digunakan sebagai antioksidan yang dapat digunakan sebagai alternatif dalam mengobatkan.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Tanaman daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)*



Gambar 1. **daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)***

Daun Lengkuas merah *(Alpinia purpurata K. Schum)* merupakan terna perenial, tinggi 1–2 meter. Batangnya tegak, tersusun oleh pelepah-pelepah daun yang bersatu membentuk batang semu, berwarna hijau keputihan. Batang muda keluar sebagai tunas dari pangkal batang tua. Daun tunggal, bertangkai pendek, bentuk daun lanset memanjang, ujungnya runcing, pangkal tumpul, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 25-50 cm, dan lebar 7-17 cm. Pelepah 15-30 cm,beralur, dan berwarna hijau, perbungaan majemuk dalam tandang yang bertangkai panjang, tegak, dan bunga berkumpul di ujung tangkai. Jumlah bunga di bagian bawah lebih banyak dari bagian atas sehingga tandang berbentuk piramida memanjang. Kelopak bunga berbentuk lonceng, berwarna putih kehijauan. Mahkota bunga yang masih kuncup pada bagian ujung berwarna putih dan bagian bawah berwarna hijau. Buah bentuk bumi, bulat,

keras, hijau saat masih mudah dan hitam kecoklatan saat tua. rimpang merayap, berdaging, kulit mengkilap, beraroma khas, berwarna merah, berserat kasar jika tua dan pedas. Untuk mendapatkan rimpang yang muda dan belum banyak serat, panen dilakukan saat tanaman berumur 2,5 - 4 bulan (Dalimartha, 2018).

a. Klasifikasi Daun Lengkuas Merah *(Alpinia purpurata K.schum)*

Menurut (Winarto & Tim Karyasari, 2020) taksonomi tumbuhan, Lengkuas Merah *(Alpinia purpurata K. Schum)* memiliki klasifikasi tumbuhan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermathophyta*

Class : *Monocotyledoneae*

Ordo : *Zingiberales*

Family : *Zingiberaceae*

Genus : *Alpinia*

Spesies : *Alpinia purpurrpurata K.Schum*

b. Marfologi Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata K.schum)*

Lengkuas merah (*Alpinia purpurata* k.schum*)* adalah tanaman rhizomatous yang terkenal di daerah tropis, terutama di Asia Tenggara. Tanaman ini sering digunakan dalam kuliner maupun pengobatan tradisional, dan memiliki ciri khas daun yang cukup besar dan lebar.

Lengkuas *(Alpinia galanga)* merupakan famili dari *Zingeberaceae* adalah salah satu jenis rempah-rempah yang ada di Indonesia. Rimpang lengkuas (Alpinia galangga) digunakan sebagai salah satu bumbu masak dan tidak pernah menimbulkan masalah. Terdapat dua jenis lengkuas, yaitu lengkuas merah *(Alpinia purpurata)*. Secara tradisional, lengkuas digunakan sebagai obat sakit perut, antijamur, karminatif, antigatal, antiinflamasi, antihipoglikemik, penurun tekanan darah tinggi, serta meningkatkan jumlah dan motilitas sperma. Pernyataan ini didasarkan pada hasil penelitian (Kusriani and Zahra, 2015) diketahui bahwa lengkuas merah *(Alpinia Purpurata K.schum*) pada ekstrak konsentrasi 10% memiliki daya yang sama terhadap pertumbuhan Candida albicans. (Saubari et al., 2020).

1. Bentuk Daun

- Lonjong: Daun lengkuas merah berbentuk lonjong atau memanjang, dengan ujung daun yang runcing.
- Lebar dan Panjang: Panjang daun bisa mencapai 30–60 cm, dan lebar sekitar 10–15 cm.
- Permukaan: Daun memiliki permukaan yang halus, dengan urat daun yang jelas dan teratur.

2. Warna Daun

- Daun lengkuas merah berwarna hijau tua di permukaan atas dan agak lebih terang di permukaan bawah.
- Terkadang, terdapat sedikit perbedaan warna atau tekstur di kedua sisi daun, dengan sedikit kilau pada permukaan atasnya.

3. Tulang Daun (Vena Daun)

Tulang daun bersifat menyirip (pinnate), dengan tulang daun utama yang jelas di sepanjang daun. Vena-vena sekunder juga dapat terlihat dengan jelas. biasanya terdapat 5-7 vena sekunder yang tersebar di sepanjang daun.

4. Petiole (Tangkai Daun)

Tangkai daun atau petiole cukup panjang, yaitu sekitar 20–30 cm, dan berwarna hijau. Petiole memiliki struktur yang agak tebal dan keras, membantu mendukung daun besar dan panjang.

5. Fungsi Daun

Daun berfungsi untuk fotosintesis, yang sangat penting bagi pertumbuhan tanaman. Selain itu, daun lengkuas merah juga digunakan dalam masakan tradisional untuk memberikan aroma khas (Hidayat,H.2019).

c. Kandungan Fitokimia Tumbuhan Daun Lengkuas Merah *(Alpinia Purpurata K.schum)*

Daun Lengkuas Merah *(Alpinia Purpurata K.schum)* dikenal kaya kandungan kimia antara lain flavonoid, saponin, tannin, dan alkaloid. Selain itu Daun Lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* juga mengandung senyawa golongan fenol dan terpenoid. Senyawa flavonoid, saponin, tanin, fenol, dan terpenoid tersebut diketahui berkhasiat sebagai antijamur. Rimpang lengkuas merah mengandung kurang lebih 1% minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terutama terdiri atas 48% metil sinamat, 20-30% sineol, eugenol, 1% kamfer, seskuiterpen, dan galangin (Khusnul dkk,2017).

Komponen kimia utama yang memberikan aroma pada Daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* adalah senyawa asetoksikhavikol asetat (ACA/galangalasetat) yang bersifat sebagai anti alergi, antioksidan, dan antijamur. Galangal asetat tidak stabil dalam bentuk larutan karena mudah mengalami reaksi hidrolisis, dan senyawa ini tidak terdapat dalam minyak atsiri daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* (Khusnul dkk,2017).

d. Mamfaat Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata K.schum)*

Daun lengkuas merah *(Alpinia purpurata K.schum),* yang juga dikenal dengan nama "ginger merah," merupakan tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional di beberapa daerah, terutama di Asia Tenggara. Meskipun lebih dikenal karena keindahannya, daun lengkuas merah juga memiliki berbagai manfaat kesehatan(Hidayat,T.2019).

Berikut adalah beberapa manfaat dari daun lengkuas merah:

1. Antiinflamasi dan Penghilang Rasa Sakit

Daun lengkuas merah *(alpinia purpurata k.schum)* mengandung senyawa aktif yang bersifat antiinflamasi dan analgesik. Sifat ini membantu mengurangi peradangan dan meredakan nyeri, terutama pada kondisi inflamasi kronis seperti arthritis.

2. Antimikroba

Seperti banyak jenis lengkuas lainnya, daun lengkuas merah juga memiliki sifat antimikroba yang dapat melawan berbagai bakteri, jamur, dan virus. Ini membuat daun lengkuas merah efektif dalam membantu melawan infeksi.

3. Meningkatkan Pencernaan

Daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* memiliki efek positif pada sistem pencernaan, mirip dengan daun lengkuas biasa. Ia dapat membantu merangsang sekresi cairan pencernaan, mengurangi gas, dan membantu mengatasi masalah pencernaan lainnya.

4. Mengatasi Masalah Pernapasan

Daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* memiliki sifat ekspektoran yang dapat membantu mengatasi masalah pernapasan seperti batuk dan pilek. Minyak esensial yang terdapat pada daun ini dapat membantu melegakan saluran pernapasan.

5. Antikanker

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* mengandung senyawa yang dapat membantu menghambat

pertumbuhan sel kanker. Meskipun ini masih dalam tahap penelitian, potensi antikanker dari tanaman ini patut untuk dipelajari lebih lanjut.

6. Menjaga Kesehatan Kulit

Daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)* diketahui memiliki kandungan antioksidan yang dapat melawan radikal bebas, yang dapat membantu memperlambat penuaan kulit dan mengurangi kerusakan akibat paparan sinar matahari. Ekstrak daun ini sering digunakan dalam kosmetik untuk merawat kulit

2.1.2 Oksidan dan Antioksidan

Oksidan atau radikan bebas di dalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya. Bahan radikan bebas tersebut sebenarnya merupakan senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Adanya elekron yang tidak berpasangan itulah yang mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya. Caranya ialah dengan mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada disekitarnya seperti lipid, protein, maupun DNA (pembawa sifat) yang akan mengakibatkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak bisa dikendalikan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan dalam pengertian kimia, antioksidan ialah senyawa-senyawa pemberi elektron, sedangkan dalam pengertian biologis antioksidan merupakan molekul atau senyawa yang dapat meredam aktivitas radikal bebas dengan mencegah

oksidasi sel berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu (Ikhlas, 2014).

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan. Contohnya adalah *Butil Hidroksi Toluen (BHT), Tersier Butyl Hidro Quinon (TBHQ), propil galat*, *tokoferol* alami maupun sintetik dan *alkil galat.*

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder adalah suatu senyawa yang dapat mencegah kerjaprooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi terutama logam-logam seperti: Fe, Cu, Pb, dan Mn. Antioksidan sekunder berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaki berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contohnya adalah vitamin E, Vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok

ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

2.1.3 Sumber-sumber Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisi radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikan bebas. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan dalam jumlah berlebihan sehingga jika terjadi paparan radikal bebas yang berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan 3 dari luar. Berdasarkan sumber perolehnya antioksidan di bagi menjadi 2 kelompok yaitu, antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan alami lebih banyak diamati di bandingkan dengan antioksidan sintetik, karena antioksidan sintetik di hawatirkan memiliki efek samping sehingga antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat di butuhkan (Naqsabandi, 2021).

2.1.4 Penggolongan Antioksidan

secara umum antioksidan dikelompokan menjadi 2 yaitu antioksidan enzimatis dan non- enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya superoksida dismutase atau SOD, katalase dan glutation peroksidase. Antioksidan non enzimatis dibagi menjadi 2 kelompok yaitu antioksidan larut dalam lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin. Antioksidan larut dalam air seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam dan protein pengikat heme. Antioksidan enzimatis (endogenus)

merupakan sistem pertahanan utama (primer) terhadap kondisi stres oksidatif. Antioksidan non enzim (eksogenus) disebut juga sebagai antioksidan sekunder karena dapat diperoleh dari bahan makanan seperti vitamin C, E, dan B- karoten (Amri, 2015).

Bahan makanan dari alam ditemukan mengandung antioksidan yang dapat menstabilkan reaksi yang berbahaya didalam tubuh. Aktifitas dari radikal bebas bergabung didalam membran sel, enzim dan DNA. Antioksidan mampu menghalangi radikal bebas pada sel dan jaringan tubuh (Bendich, 1992). Antioksidan antara lain vitamin C, beta karoten, saponin, phenol dan flavonoid. Komponen antioksidan diantaranya adalah saponin dan flavonoid (Mardalena, 2015).

2.1.5 Ekstrak

a. Pengertian Ekstak dan Ekstaksi

Menurut Farmakope edisi III ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus digerus menjadi serbuk. Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat. Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organi C yang digunakan. Pelarut organic akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organic pada bagian luar sel yang selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses ini terus

berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif di luar sel (Marjoni,2016).

Ekstraksi adalah proses untuk mengambil senyawa kimia yang dapat larut, sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut, menggunakan pelarut cair. Simplisia yang diekstraksi mengandung berbagai senyawa aktif yang tidak larut, seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Proses ekstraksi pada dasarnya melibatkan pemindahan massa dari komponen zat padat yang ada pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut dalam pelarut organik yang ada di luar sel dan kemudian berdifusi ke dalam pelarut. Proses ini akan berlangsung terus-menerus hingga tercapai keseimbangan konsentrasi zat aktif antara bagian dalam sel dan di luar sel (Marjoni, 2016).

senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan sesedikit mungkin terkena panas.

Terdapat tiga golongan pelarut yaitu:

a) Pelarut polar

Pelarut polar adalah senyawa yang memiliki rumus umum ROH dan menunjukan ada nya atom hidrogen yang menyerang atom elektronegatif (oksigen). Pelarut dengan tingkat kepolaran tinggi merupakan pelarut yang cocok untuk semua jenis zat aktif karena disamping menarik senyawa yang bersifat polar,pelarut ini juga tetap dapat menarik senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah. Contoh pelarut polar diantaranya : air, metanol, etanol, asam asetat (Marjoni,2016).

b) Pelarut Semi polar

Pelarut semi polar adalah pelarut yang memiliki molekul yang tidak mengandung ikatan O-H. Pelarut semi polar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat semipolar dari tumbuhan. Contoh : aseton, etil asetat, diklorometon (Marjoni,2016).

c) Pelarut Non Polar

Pelarut non polar merupakan senyawa yang memiliki konstan dielektrik yang rendah dan tidak larut dalam air. Pelarut ini baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar seperti minyak. Contoh: heksana, klorofom, dan eter (Marjoni,2016).

b. Tujuan Ekstraksi

1. Senyawa kimia yang telah memiliki identitas

Untuk senyawa kimia yang telah memiliki identitas, maka proses ekstraksi dapat dilakukan dengan cara mengikuti prosedur yang telah dipublikasikan atau dapat juga dilakukan sedikit modifikasi untuk mengembangkan proses ekstraksi (Marjoni, 2016).

2. Mengandung kelompok senyawa kimia tertentu

Dalam hal ini, proses ekstraksi bertujuan untuk menemukan kelompok senyawa kimia metabolit sekunder tertentu dalam simplisia seperti alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Metode umum yang digunakan adalah studi pustaka dan untuk kepastian hasil yang diperoleh, ekstrak diuji lebih lanjut secara kimia atau analisa kromatografi yang sesuai untuk kelompok senyawa kimia yang dituju (Marjoni,2016).

3. Organisme (tanaman atau hewan)

Penggunaan simplisia dalam pengobatan tradisional biasanya dibuat dengan cara mendidihkan atau menyeduh simplisia tersebut dengan air. Dalam hal ini, proses ekstraksi yang dilakukan secara tradisional tersebut harus ditiru dan dikerjakan sedekat mungkin, apalagi jika ekstrak tersebut akan dilakukan kajian ilmiah lebih lanjut terutama dalam hal validasi penggunaan obat tradisional (Marjoni, 2016)

4. Penemuan senyawa baru

Untuk isolasi senyawa kimia baru yang belum diketahui sifatnya dan belum pernah ditemukan sebelumnya dengan metode apapun maka, metoda ekstraksi dapat dipilih

secara random atau dapat juga dipilih berdasarkan penggunaan tradisional untuk mengetahui adanya senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologi khusus (Marjoni, 2016).

c. Jenis-Jenis Ekstrak

Ekstrak dapat dibedakan berdasarkan konsistensinya,komposisi dan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

1) Ekstrak encer (Extractum tenue) Ekstrak ini bertekstur cair dan memiliki konsistensi yang mudah untuk dituang.
2) Ekstrak kental (Extractum spissum) Merupakan ekstrak cair yang sebagian besar pelarutnya diuapka sehingga kandungan pelarutnya tersisa 10 % dan sulit untuk dituang .
3) Ekstrak kering (Extractum siccum), ekstrak ini mempunyai konsistensi kering.

d. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuia. Tujuan dari ekstraksi ialah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ada beberapa cara ekstraksi yang dapat digunakan, pemilihan metode ini dilakukan dengan memperhatikan sifat dari senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia (Hanani, 2014).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia dihaluskan (umumnya dipotong-potong atau berupa serbuk halus), disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendemen tersebut disimpan ditempat yang terlindung cahaya langsung selama 5 hari sambil sering dikocok. Kemudian disaring, diperas, dan ampasnya dicuci dengan cairan penyeri. Hasil ekstraksi disimpan sejuk selama beberapa hari, lalu cairan dituang dan disaring (Hanani, 2014).

Terdapat dua tipe maserasi yaitu sederhana, ultrasonik dan kinetic atau pengadukan. Maserasi sederhana dapat dilakukan dengan merendam bagian simplisia secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup, yang dilakukan pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya tiga hari dengan pengadukan berulang kali sampai semua bagian tanaman dapat melarut dalam cairan pelarut. Proses ekstraksi dihentikan ketika telah tercapai kesetimbangan senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Selanjutnya campuran di saring dan ampasnya diperas agar diperoleh bagian cairnya saja. Cairan jernih di saring didekantasi dan di biarkan selama dalam waktu tertentu (Mukhairini, 2014).

2.1.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui suatu tes atau pemeriksaan yang dapat dengan cepat memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia tertentu. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan

gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Kristianti et al., 2008).

Skrining fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaan kandungan senyawa Metabolit Sekunder alkaloida, flavonoida, terpenoida/ steroida, tanin dan saponin (Minarno, 2015).

a. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik siklik yang mengandung nitrogen dengan bilangan oksidasi negatif yang penyebarannya terbatas pada makhluk hidup. Alkaloid juga merupakan golongan zat metabolit sekunder yang terbesar, yang pada saat ini telah diketahui sekitar 5500 buah. Alkaloid pada umumnya mempunyai keaktifan fisiologi yang menonjol sehingga alkaloid sering dimanfaatkan untuk pengobatan. Alkaloid juga merupakan suatu senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid sering sekali beracun bagi manusia dan banyak digunakan dalam bidang pengobatan. Fungsi alkaloid masih banyak kabur meskipun masing-masing senyawa terlihat sebagai pengatur tumbuh atau penghalang atau penarik serangga (Illing et al., 2017).

b. Terpenoid

Terpenoid mencakup sejumlah besar senyawa tumbuhan, istilah ini digunakan untuk menunjukkan bahwa secara biosintesis semua senyawa tumbuhan itu berasal dari senyawa yang sama. Kemudian senyawa itu dipilah pilah menjadi beberapa golongan berdasarkan jumlah satuan yang terdapat dalam senyawa tersebut. Terpenoid merupakan senyawa hasil kondensasi linier asam asetat dengan dua atom karbon. Terpenoid mencakup sejumlah besar senyawa tumbuhan. Secara kimia terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan khusus pada permukaan daun, dan terpenoid mempunyai fungsi sebagai antiseptik (Illing et al., 2017).

c. Steroid

Steroid dapat berfungsi sebagai obat perangsang meningkatnya metabolit sekunder hormon pada tubuh manusia sehingga menjadi lebih kuat. Steroid ditemukan pada tumbuhan, misalnya filosterol bersifat sebagai senyawa non polar, sehingga mudah sekali larut dalam air atau pelarut polar (Illing et al., 2017).

d. Flavonoid

Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonyugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas biokimiawi seperti aktivitas anti oksidan, anti mutagenesis, aktivitas sitotoksis, dan mengubah ekspresi gen. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan,

terikat pada gula sebagai glikosida dan tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida. Flavonoid mempunyai fungsi sebagaai diuretik (Illing et al., 2017).

e. Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa nonvolatile dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol. Saponin juga suatu glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa, dan mempunyai fungsi sebagai antibakteri (illing *et al*., 2017).

f. Tanin

Menurut batasannya, tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air. Dalam industri, tanin adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mampu mengubah kulit hewan mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung-silang protein (illing *et al.,* 2017).

2.1.7 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi ini menggunakan berbagai

pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula (akhasita,2014).

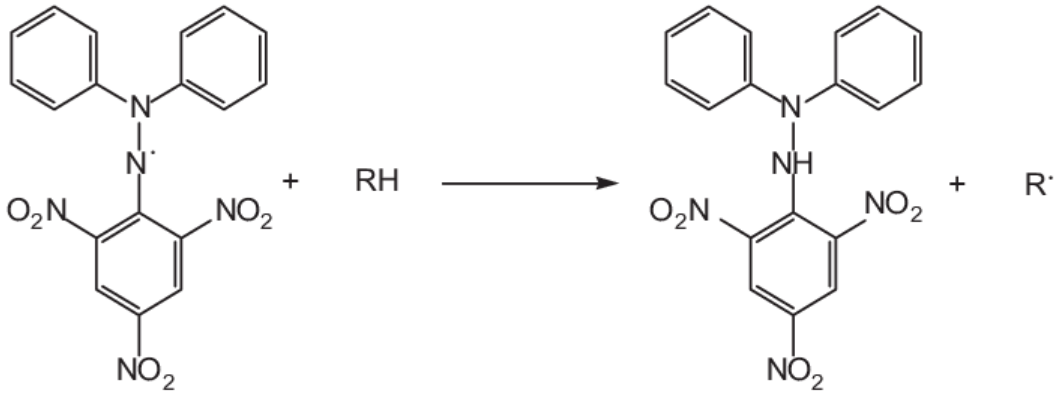
2.1.8 Metode 1,1-diphenyl-2-pircylhydrazil (DPPH)

Senyawa antioksidan dapat diketahui keberadaannya melalui uji aktivitas antioksidan. Salah satu metode yang umum digunakan adalah dengan menggunakan senyawa radikal bebas *1,1-diphenyl-2-pircylhydrazil* (DPPH). Metode tersebut digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas penghambatan prosess oksidasi oleh senyawa antioksidan yang terdapat dalam bahan pangan atau contoh ekstrak bahan alam. Senyawa DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dalam larutan berair atau methanol dan memiliki warna ungu. Senyawa DPPH bersifat stabil dalam bentuk radikal sehingga dapat dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan menggumakan metode DPPH ini bersifat mudah, cepat, dan sensitive untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa teretntu atau ekstrak tanaman (Hanifa, 2018).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH (Syarif, 2014).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Mekanisme terjadinya reaksi DPPH ini berlangsung melalui transfer electron. Ketika senyawa radikal bebas

menerima donor hydrogen yang menyebabkan electron yang sebelumnya tidak berpasangan menjadi berpasangan dan membentuk senyawa yang stabil. Adapun reaksi perendaman DPPH dengan senyawa anti radikal bebas dapat dilihat pada contoh sebagai berikut :



Gambar 2. Reduksi DPPH dari senyawa Peredam DPPH

warna kuning. Semakin banyak senyawa DPPH yang tereduksi, maka semakin pudar warna ungu dari senyawa DPPH tersebut menjadi kuning. Evaluasi aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengamati perubahan absorbansi pada senyawa DPPH.

Hasil dari metode DPPH umumnya dibuat dalam bentuk Inhibition Concentration 50 (IC_{50}). IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan tereduksinya aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin besar aktivitas antioksidan suatu ekstrak, maka nilai IC_{50} akan semakin kecil. Suatu senyawa antioksian dikatakan baik jika nilai IC_{50} semakin kecil (Jannah, 2022).

2.1.9 Aktivitas Antioksidan Dalam Bentuk IC50

Dilakukan perhitungan IC_{50} yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% melalui persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa sampel uji (X) dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata (Y) dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC_{50} nya maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik (Handayani, 2018).

Dan hasil penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dihitung nilai IC50 dengan menggunakan persamaan regresi linier (Handayani, 2018).

2.1.10 Spektrofotometri UV-VIS

a. Definisi

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorbsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energy relatif jika energy tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi dan cara ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Pada fotometer

filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek pada panjang gelombang tertentu (Yahya, 2013).

b. Prinsip Kerja

Prinsip kerja spektrofotometer adalah penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh bahan yang diperiksa. Tiap zat memiliki absorbansi pada panjang gelombang tertentu yang khas. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi digunakan untuk mengukur kadar zat yang diperiksa. Banyaknya cahaya yang diabsorbsi oleh zat berbanding lurus dengan kadar zat. Memastikan ketepatan pengukuran, kadar yang hendak diukur dibandingkan terhadap kadar yang diketahui (standar). Setelah dimasukan blangko (Saputra, 2019).

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorbsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorbsi dapat menunjukan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Yahya, 2013).

2.1.11 Jenis-Jenis Spektrofotometer

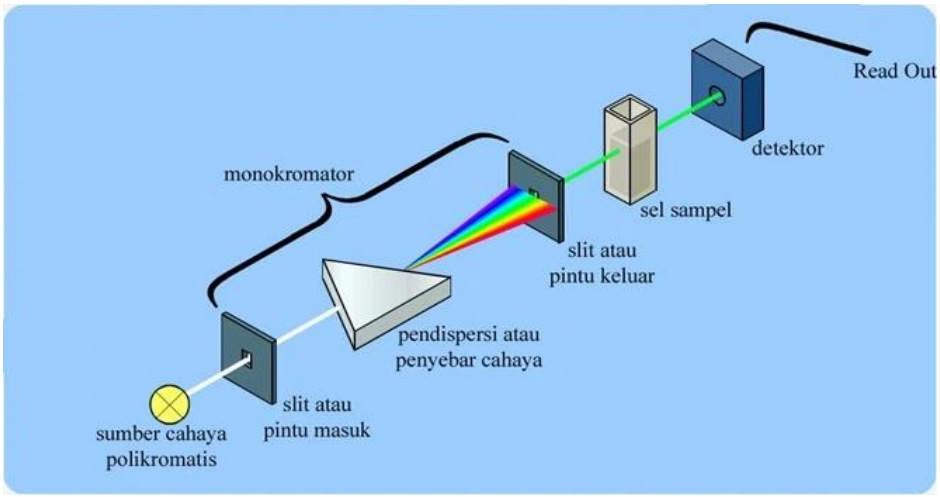
Spektrofotometer mempunyai dua tipe yaitu :

1) Single Beam

Single-Beam instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Pengukuran sampel dan larutan blangko atau standar harus dilakukan secara bergantian dengan sel yang sama (Yahya, 2013).

2) Double Beam

Spektrofotometer memiliki berkas sinar ganda, sehingga dalam pengukuran absorbansi tidak perlu bergantian antara sampel dan larutan blangko, spektrofotometer double beam memakai absorbansi (A) otomatis sebagai fungsi panjang gelombang (Yahya, 2013).



Gambar 3. Diagram Alat Spektrofotometer UV-VIS

Fungsi masing-masing bagian :

1) Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.

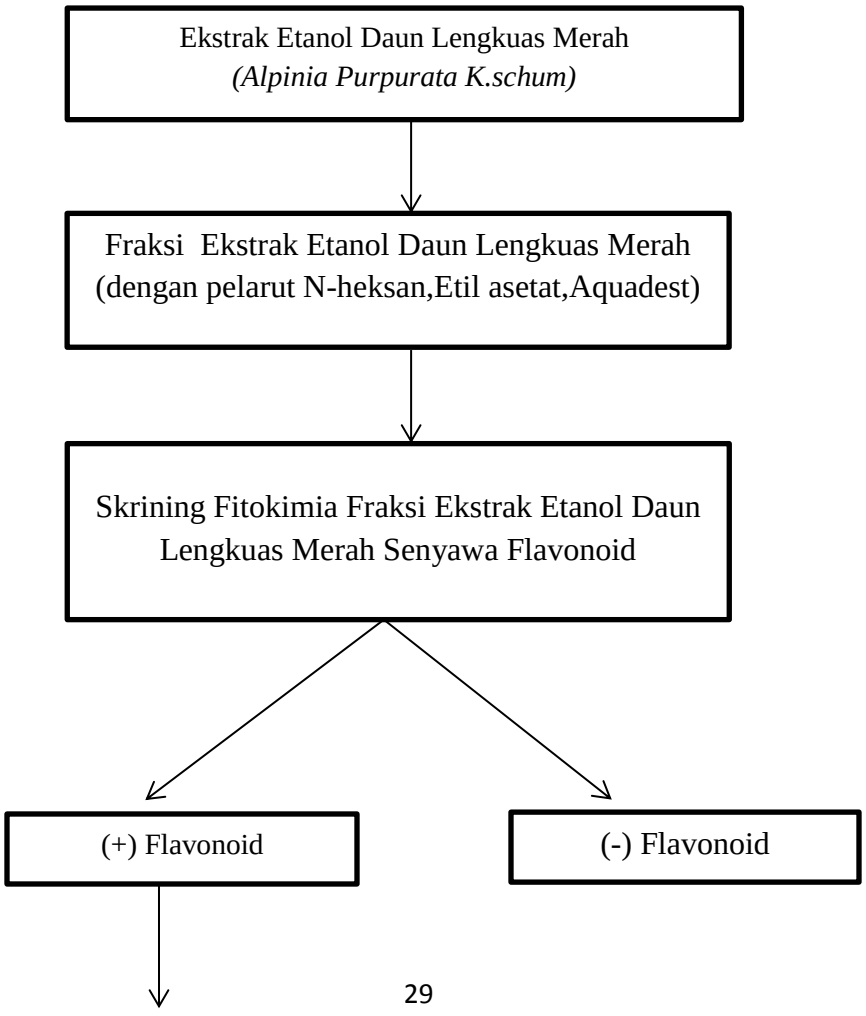
2) Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi Panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar diatas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya, dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan Panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar ditas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar.

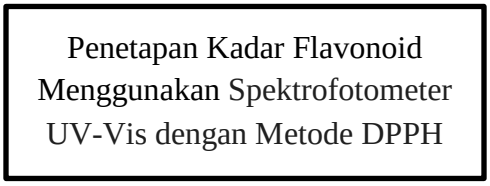
3) Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV-VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas.

4) Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.

5) *Read Out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarya isyarat listrik yang berasal dari detector.

2.2 Kerangka Konsep





Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Sekolah Tinggi Kesehatan AL-Fathah Bengkulu pada tahun 2025 dari bulan Januari sampai dengan April 2025.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, Neraca analitik (Shimadzu) Seperangat alat fraksinasi, Seperangkat alat Rotary Evaporator, Batang Pengaduk, Spektrofotometer UV-Vis, Gelas ukur, Mikropipet, Spatel, Kuvet, Labu ukur, Tabung reaksi, arloji, Rak tabung reaksi, dan Beaker Gelas.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam peneliti ini yaitu, fraksi dari Daun Lengkuas Merah *(alpinian purpurata k.schum),* Aquadest, Etil asetat, n-heksana, etanol, Larutan DPPH (1,1-Diphenyl-2-Phycrihidrazil).

3.3 Verifikasi Tanaman

Verifikasi ini bertujuan untuk mengetahui keaslian identitas dari tanaman yang akan digunakan pada penelitian yaitu Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata k.schum),* dilakukan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan. Verifikasi ini di lakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Laboratorium Biologi Universitas Bengkulu.

3.4 Pengambilan sampel

Sampel atau bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun lengkuas merah bahan yang digunakan diambil pada daerah Lais Bengkulu Utara. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah seluruh tumbuhan yang berada diatas tanah, tidak termasuk akar dan tumbuhan yang diambil yang masih segar yaitu bagian daun. Sampel yang telah terkumpul dicuci bersih selanjutnya dilakukan sortasi kering. Dibersihkan selanjutnya diangin-anginkan untuk dijadikan serbuk simplisia. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dengan cara dianginkan atau tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Sortasi kering dilakukan untuk memilih sampel yang telah kering bebas dari kotoran dan kerusakan. Setelah itu dilakukan perajangan guna meningkatkan bidang kontak antara cairan pelarut dengan simplisia (Maulidina, 2015).

3.5 Pengelolaan sampel

Sampel yang digunakan dalam dalam penelitian ini adalah Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata k.schum)* di buat di Laboratorium Fitokimia dan Kimia Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fathah Bengkulu.

3.6 Pembuatan Simplisia

Daun Lengkuas Merah diambil yang masih segar lalu dilakukan sortasi basah. Lalu cuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran maupun debu. Proses selanjutnya dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C, Daun lengkuas merah yang sudah kering kemudian ditimbang dan dilakukan proses penghalusan dengan cara diblender sampai terbentuk serbuk. Serbuk daun lengkuas merah yang di dapat selanjutnya diayak menggunakan ayakan nomor 80.

3.7 Pembuatan ekstrak

3.7.1 Maserasi

Ekstrak daun lengkuas merah *(alpinia purpurata k.schum)* dibuat dengan cara maserasi, 300 gr serbuk simplisia daun lengkuas merah *(alpinia purpurata k.schum)* dimasukkan ke dalam botol maserasi yang berwarna gelap. Tambahkan pelarut alkohol 96% hingga sampel terendam seluruhnya dan ada selapis etanol diatasnya. Biarkan selama 3 hari ditempat gelap terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk atau dikocok. Pengadukan atau pengocokan dilakukan minimal tiga kali sehari selama 15 menit. Setelah 3 hari saring cairan penyari dan ampasnya diperas dan ditampung ke wadah lain (filtrat 1). Sedangkan ampas diremaserasi dengan penambahan alkohol 96% sampe terendam selama 3 hari. Setelah hari ke-3 dilakukan penyaringan dengan kertas

saring, lakukan hal yang sama pada proses remaserasi. Kemudian hasil filtrate yang diperoleh dicampur dengan filtrat 1. Setelah itu hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga ekstrak kental dari Daun Lengkuas Merah (Sulaiman dan Suriani, 2016).

3.7.2 Fraksinasi

Ekstrak kental Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata k.schum)* ditimbang sebanyak 10 gram dilarutkan dengan aquadest (polar) sebanyak 100 ml dan ditambahkan dengan nonpolar (n-heksan) 100 ml kedalam corong pisah lalu dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (lapisan etanol-air) dan lapisan atas (lapisan n-heksan), lapisan atas diambil yaitu fraksi n-heksana. Selanjutnya lapisan etanol-air ditambahkan pelarut semi polar (etil asetat) 100 ml kemudian masukkan kedalam corong pisah lalu dikocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan (bawah etanol air) dan atas (lapisan etil asetat) (Noviyanty. Yat al, 2019).

3.8 Evaluasi Fraksi Daun Lengkuas Merah *(alpinia purpurata K.schum)*

3.8.1 Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan terhadap bentuk, warna, dan bau dari ekstrak yang didapatkan.

3.8.2 Rendemen

Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak.

Kualitas ekstrak yang dihasilkan biasanya berbanding terbalik dengan jumlah rendamen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendamen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang di dapatkan.

Adapun rumus untuk menghitung rendamen sebagai berikut:

$$\%\ Rendemen = \frac{Berat\ Fraksi\ yang\ diperoleh}{Berat\ Ekstrak\ Sampel\ yang\ digunakan} \times 100\%$$

3.9 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya golongan senyawa aktif dari ekstrak tumbuhan Daun lengkuas merah *(alpinia purpurata K.schum)*. Uji fitokimia yang dilakuakan yaitu flavonoid.

3.9.1 Uji Flavonoid

Ambil esktrak 0,5 gram masukan tabung reaksi, lalu ditambahkan beberapa tetes NaOh 1%. Perubahan warna larutan menjadi kuning menandakan adanya flavanoid (Harborne, 2017).

3.10 Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 3,9 mg dilarutkan dalam etanol p.a sampai tepat 100 mL (0,1 mM) (Herlina *et al*,2022).

3.11 Pembuatan Larutan Uji Sampel

Larutan fraksi etil asetat, N-heksan dan Aquadest ditimbang masing-masing sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan

pengenceran lagi dengan membuat 4 seri konsentrasi larutan 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm (Noviyanty. Yat al, 2019).

3.12 Penetapan Panjang Gelombang

Larutan blanko terdiri dari 2 mL DPPH 50 ppm dan 2 mL etanol p.a. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap. Kemudian di ukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm (Herlina *et al*,2022).

3.13 Penentuan Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan uji dipipet sebanyak 2 mL dengan mikropipet masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap. Kemudian di ukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Noviyanty. Yat al, 2019).

3.14 Analisis Data

Penentuan aktivitas antiradikal sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus:

$$\%\ inhibisi = \frac{\text{Aborbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{Absorbansi\ banko}\ x\ 100\%$$

Absorban blanko : Serapan radikal DPPH pada panjang gelombang (517 nm) Absorban sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang (517

nm) Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi ekstrak daun lengkuas merah *(Alpinia Purpurata K.schum)* dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi ekstrak Fraksi daun lengkuas merah sebagai sumbu X dan nilai % inhibisi sebagai sumbu Y. Dari persamaan :

Penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan :

Y = % inhibisi (50)

a = Intercept (pertolongan garis disumbu Y)

b = Slope (Kemiringan)

X = Konsentrasi

Tabel 1. Sifat Antioksidan Berdasarkan IC_{50}

Nilai IC_{50}	**Sifat Antioksidan**
<50 µg/mL	Sangat kuat
50 – 100 µg/mL	Kuat
100 – 150 µg/mL	Sedang
150 – 200 µg/mL	Lemah

IC_{50} (inhibition concentration), yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka antioksidan itu semakin kuat dalam menangkal radikal bebas atau dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat.

DAFTAR PUSTAKA

Amri, S. (2015). Penggolongan Antioksidan Berdasarkan Sifat dan Mekanisme Kerjanya. Jakarta: *Penerbit Ilmu Farmasi.*

Bendich, A. (1992). Peran Antioksidan dalam Menstabilkan Reaksi Berbahaya di Dalam Tubuh. New York: Academic Press.

Dalimartha, S. (2018). Tanaman Herbal untuk Pengobatan Tradisional. Jakarta: *Penerbit Agromedia.*

Hanani, E. (2014). Metode Ekstraksi dan Pemanfaatannya dalam Penelitian Farmasi. Bandung: *Pustaka Medika.*

Handayani, R. (2018). Penentuan Nilai IC50 dalam Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH. Surabaya: *Penerbit Farmasi Nusantara.*

Harborne, J.B. (2017). Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Edisi Indonesia. Yogyakarta: *Gadjah Mada University Press.*

Hidayat, H. (2019). Manfaat Daun Lengkuas Merah dalam Kuliner dan Kesehatan Tradisional. Yogyakarta: *Penerbit Herbalis.*

Ikhlas, I. (2014). Peranan Antioksidan dalam Menangkal Radikal Bebas. Medan: *Universitas Sumatera Utara Press.*

Illing, N., & dkk. (2017). Analisis Senyawa Fitokimia pada Bahan Alam. Jakarta: *Pustaka Bioteknologi.*

Jannah, L. (2022). Evaluasi Antioksidan Menggunakan Metode DPPH dalam Bahan Herbal. Surabaya: *Penerbit Kedokteran Hijau.*

Kristianti, M., & dkk. (2008). Skrining Fitokimia: Pendekatan Metode Cepat dan Efisien. Bandung: *Pustaka Alamiah.*

Kusriani, E., & Zahra, N. (2015). Potensi Lengkuas Merah sebagai Antijamur dan Antibakteri. Semarang: *Universitas Negeri Semarang Press.*

Marjoni, A. (2016). Teknik Ekstraksi Simplisia Nabati dan Hewani. Jakarta: *Penerbit Farmasi Modern.*

Mardalena, M. (2015). Komponen Antioksidan pada Bahan Alami. Bandung: *Pustaka Ilmu Hayati.*

Minarno, H. (2015). Uji Fitokimia untuk Identifikasi Metabolit Sekunder. Jakarta:

Penerbit Biokimia Tumbuhan.

Naqsabandi, N. (2021). Keunggulan Antioksidan Alami dalam Menangkal Radikal Bebas. Malang: Penerbit Herbal Nusantara.

Noviyanty, Y., & dkk. (2019). Metode Fraksinasi Cair-Cair pada Ekstrak Herbal. Bengkulu: *Yayasan STIKES Al-Fatah Bengkulu.*

Permadi, A., & dkk. (2019). Studi Potensi Antioksidan pada Daun Lengkuas Merah (Alpinia Purpurata K.Schum). Bandung: Pustaka Herbal Medis.

Saputra, R. (2019). Spektrofotometri UV-VIS: Aplikasi dalam Penelitian Farmasi. Jakarta: Penerbit Kimia Modern.

Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). Pengaruh Radikal Bebas dan Manfaat Antioksidan. Padang: *Universitas Andalas Press.*

Sulaiman, F., & Suriani, R. (2016). Proses Maserasi dan Fraksinasi dalam Penelitian Fitokimia. Jakarta: Penerbit Kedokteran Hijau.

Syarif, A. (2014). Metode Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH. Jakarta: Pustaka Farmasi.

Winarto, & Tim Karyasari. (2020). Taksonomi dan Morfologi Lengkuas Merah. Bandung: Penerbit Biologi Tumbuhan.

Yahya, A. (2013). Prinsip dan Aplikasi Spektrofotometri UV-VIS dalam Analisis Farmasi. Surabaya: *Universitas Airlangga Press.*