

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BIJI  
KESUMBA KELING (*Bixa orellana L*) DENGAN  
METODE DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhidrazil*)**

**KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat  
Untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md., Farm)



Oleh :  
**HESTI LESTARI**  
17101047

**AKADEMI FARMASI AL-FATAH  
YAYASAN ALFATHAH  
BENGKULU  
2020**

### PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini adalah :

Nama : Hesti Lestari

NIM : 17101047

Program Studi : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kesumba Keling  
(*Bixa orellana L.*) Dengan Metode Dpph (1,1-diphenil-2-picrylhidrazil)

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil karya sendiri dan sepengetahuan penulis tidak berisikan materi yang publikasikan atau ditulis orang lain atau dipergunakan untuk menyelesaikan studi di perguruan tinggi lain kecuali untuk bagian-bagian tertentu yang dipakai sebagai acuan.

Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Bengkulu, Juli 2020

Yang Membuat Pernyataan



Hesti Lestari

## LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL  
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BIJI KESUMBA KELING  
(*Bixa orellana L*) DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhidrazil)

Oleh :

Hesti Lestari

17101047

Karya Tulis Ilmiah ini Telah Dipertahankan Dihadapan Dewan Penguji  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Diploma (DIII) Farmasi  
Di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu  
Pada Tanggal : 9 Juli 2020

Dewan Penguji :

Pembimbing I

(Luky Dharmayanti, M.Farm.,Apt)

NIDN :

Pembimbing II

(Herlina M.Si)

NIDN : 0201058502

Penguji

(Yuska Novi Yantv, M.Farm.,Apt)

NIDN :0212118202

## MOTTO DAN PERSEMBAHAN

### MOTTO

*"Ketika telah melakukan yang terbaik yang kita bisa, maka kegagalan bukan sesuatu yang harus disesalkan, tapi jadikanlah pelajaran atau motivasi diri".*

*"Sesungguhnya Allah tidak akan merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri"(QS. Ar Ra'd : 11).*

*"Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah diusahakannya"(An Najm : 39).*

### PERSEMBAHAN

*Alhamdulillahirobilalamin Terimakasih ya Allah yang maha pengasih, maha penyayang, maha adil, telah memberikan kelancaran, kekuatan, kesabaran. Semoga keberhasilanku menjadi jalan suksesanku dan cita-citaku aminn.*

*Karya Tulis Ilmiah Ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya, Bapak Aliaman dan Ibu Roknani (Alm) tanpa dukungan dan doa orang tua saya tidak akan mungkin bisa menyelesaikan ini. Terima kasih yang sedalam-dalamnya saya ucapkan dari hati yang paling dalam untuk Bapak dan Ibu yang telah mendidik, menyayangi, mencintai dengan sepenuh hati, untuk bapak semoga selalu dalam lindungan Allah SWT di berikan umur panjang serta kebahagiaan sampai akhir hayat, dimudahkan segala urusan, dimudahkan rezeki, dan untuk (Alm) ibu semoga dilapangkan kuburan, ditempatkan disisi Allah yang paling mulia yaitu disurga-Ny Allah swt, Aamiin ya Allah. Pak dan mak aku minta maaf untuk kesalahan yang mungkin tidak sengaja diperbuat, maaf untuk hal yang mungkin pernah melukai hati, aku sangat mencintai kalian lebih dari apapun. Bapak ku tersayang semoga suatu hari nanti aku bisa membahagiakan bapak, (alm) Emak, ayuk nike, ayuk desi, adikku wendi, dela zaki, dan untuk ayukku nike terima kasih sudah*

*menjadi kakak yang terbaik untuk saya yang sudah memberi semangat dan motivasi dan sudah bekerja keras demi kesuksesan adik-adiknya, aku cinta kalian semuanya.*

*Terima kasih juga yang sedalam-dalamnya saya ucapkan kepada pembimbing terbaikku, terhebat, Ibu Luky Dharmayanti, M.Farm.,Apt. yang sudah banyak sekali membantu membimbing dengan penuh kesabaran dan ketulusan, dan saya juga mengucapkan terima kasih kepada ibu Herlina M.Si yang relah membimbing selama penelitian. Terima Kasih Ibu semoga sehat selalu dan dilindungi Allah SWT juga dilancarkan rezekinya bu, semoga nanti bertemu kembali dan ibu sudah menjadi orang yang lebih hebat lagi dari yang sekarang, sehat terus Ibu Luky dan Ibu Herlina dan keluarga Aamiin ya Allah.*

*Terima Kasih juga saya ucapkan kepada orang yang selalu saya sebutkan dalam doaku, dengan penuh kesabaran menghadapiku, yang mau dengerin keluh kesahku, dan memberi semangat sekaligus memotivasi tanpa kamu disampingku aku mungkin juga tidak akan bisa menjadi sekuat ini.*

*Dan juga tidak lupa ucapan terima kasih kepada sahabat seperjuanganku, sahabat perantauan, yang sudah seperti saudara yaitu ayuk dewi, era (zahira) ku, dehghi (deri),eza (leza), terima kasih suka dukanya, susah senang dilewati bersama, terima kasih banyak buat kalian yang juga sering menyemangati selama ini, terima kasih untuk kebersamaan 3 tahun ini makasih banget ya...*

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini yang berjudul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenil-2-picryhidrazil)”**. Karya Tulis Ilmiah ini diajukan sebagai sebagai salah satu syarat untuk melaksanakan penelitian di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu. Dengan tidak mengurangi rasa hormat kepada pembimbing, ucapan terima kasih yang terbesar penulis persembahkan kepada kedua orang tua Ayahanda Aliaman dan Ibu Roknaini, karena dengan doa dan kasih sayangnya telah mengiringi perjalanan penulis dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah ini. Penghargaan dan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis ucapkan kepada :

1. Ibu Luky Dharmayanti, M. Farm., Apt selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, Kritik, saran-saran dan pikiran untuk membimbing peneliti dengan penuh kesabaran dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Ibu Herlina, M.Si, selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga, kritik, saran-saran dan pikiran untuk membimbing peneliti dengan penuh kesabaran dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Ibu Yuska Noviyanti, M. Farm., Apt selaku penguji yang telah meluangkan waktu menguji, membimbing serta memberi saran-saran kepada peneliti dengan penuh kesabaran.

4. Ibu Aina Fatkhil Haque, M. Farm., Apt selaku pembimbing akademik yang telah memberikan masukan, dukungan, dan bimbingan selama menempuh pendidikan di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.
5. Ibu Densi Selpia Sopianti, M.Farm.,Apt selaku Direktur Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.
6. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt,MM selaku Ketua Yayasan AlFathah Bengkulu.
7. Dosen dan staf karyawan Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis.
8. Almamaterku tercinta Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.
9. Teman-teman seperjuangan di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah Ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dan dapat memberikan manfaat untuk pembangunan ilmu pengetahuan khususnya bagi perkembangan ilmu kesehatan.

Bengkulu, juli 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTO DAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xii</b>
<b>INTISARI .....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Batasan Masalah.....	3
1.3. Rumusan Masalah .....	3
1.4. Tujuan Penelitian .....	3
1.5. Manfaat Penelitian .....	4
1.5.1. Bagi akademik.....	4
1.5.2. Bagi peneliti Lanjutan .....	4
1.5.3. Bagi masyarakat .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1.Kajian Teori .....	5
2.1.1. Buah Kesumba Keling .....	5
2.1.2. Antioksidan .....	7
2.1.3. Radikal Bebas.....	9
2.1.4. Kuersetin .....	11
2.1.5. Flavonoid .....	13
2.1.6. DPPH .....	14

2.1.7. Ekstraksi.....	15
2.1.8. Metode Ekstraksi .....	15
2.1.9. Spektrofotometri .....	18
2.2. Kerangka Konsep.....	24
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1.Tempat dan Waktu Penelitian .....	25
3.2.Alat dan Bahan.....	25
3.3.Prosedur Kerja Penelitian .....	25
3.4.Analisis Data .....	28
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
4.1. Hasil Penelitian .....	30
4.1.1. Hasil Verifikasi Tanaman .....	31
4.1.2. Hasil Pembuatan Ekstrak .....	31
4.1.3. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang.....	31
4.1.4. Hasil Analisa Uji Aktivitas Antioksidan sampel .....	31
4.1.5. Hasil Analisis Data.....	33
4.2. Pembahasan.....	34
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>37</b>
5.1. Kesimpulan .....	37
5.2. Saran.....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>32</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Kesumba Keling .....	5
Gambar 2. Struktur Antioksidan .....	9
Gambar 3. Struktur Radikal Bebas .....	11
Gambar 4. Rumus Struktur Kuersetin .....	12
Gambar 5. Rumus kimia dari flavonoid .....	14
Gambar 6. Struktur DPPH.....	14
Gambar 7. Pembacaan Spektrofotometer.....	20
Gambar 8. Proses Dispersi Cahaya .....	21
Gambar 9. Kerangka konsep .....	24
Gambar 10. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang.....	31
Gambar 11. Kurva Kalibrasi Konsentrasi Kuersetin.....	32
Gambar 12. Kurva Kalibrasi Konsentrasi Ekstrak.....	32
Gambar 13. Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan .....	36
Gambar 14. Verifikasi Tanaman .....	42
Gambar 15. Prosedur.....	43
Gambar 16. Alat Penelitian .....	44
Gambar 17. Bahan Penelitian.....	47
Gambar 18. Proses Pengerjaan.....	48
Gambar 20. Hasil Spektrofotometri .....	49

## DAFTAR TABEL

Tabel I.	Hasil Pembuatan Ekstrak Biji Kesumba Keling.....	31
Tabel II.	Hasil Analisa Kuantitatif Antioksidan pada <i>Bixa orellana L</i> secara Spektrofotometri UV-Vis .....	33
Tabel III.	Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak <i>Bixa orellana L</i> Dan Kuersetin .....	35

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Verifikasi Tanaman .....	41
Lampiran 2. Prosedur kerja .....	42
Lampiran 3. Alat-alat Penelitian .....	43
Lampiran 4. Bahan-bahan Penelitin .....	46
Lampiran 5. Proses Pengerjaan .....	47
Lampiran 7. Hasil Spektrofotometri .....	49
Lampiran 8 . Hasil Pengukuran Panjang Gelombang .....	50
Lampiran 9. Rumus Kadar IC <sub>50</sub> .....	51
Lampiran 10. Perhitungan % Inhibisi .....	52

## INTISARI

Di Indonesia, buah kesumba keling merupakan salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan sebagai mainan bagi anak-anak dan dikenal dimasyarakat sebagai tanaman hias yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Banyak pendapat mengenai tanaman kesumba keling mengandung komponen metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, steroid dan flavonoid. Berdasarkan pada uraian tersebut peneliti ingin menguji aktivitas antioksidan ekstrak Biji Kesumba Keling menggunakan metode DPPH.

Biji kesumba keling yang didapat kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%. Metode yang dapat dilakukan untuk uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini yaitu metode DPPH, pembuatan larutan DPPH yaitu sebanyak 3,5 mg DPPH dengan etanol p.a dalam labu ukur 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi 35 ppm. Pengukuran antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan diukur pada panjang gelombang 515 nm.

Kadar aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) yang diperoleh pada ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana L*) adalah 7,7588 ppm tergolong sangat kuat karena dibawah 50 ppm dan dibawah nilai baku pembanding kuersetin, nilai  $IC_{50}$  untuk baku pembanding kuersetin nilainya yaitu 8,0769 ppm.

**Kata Kunci : Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*), Aktivitas Antioksidan ( $IC_{50}$ ), DPPH**

**Daftar Acuan : 25 ( 1999-2015)**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Di Indonesia, buah kesumba keling sering dimanfaatkan sebagai mainan bagi anak-anak sebagai inai dengan cara langsung diaplikasikan pada kuku. Tumbuhan kesumba keling dikenal dimasyarakat sebagai tanaman hias yang belum dimanfaatkan secara maksimal (Risnawati, dkk 2012).

*Bixa orellana* atau di Jawa Tengah populer disebut kesumba keling merupakan salah satu tanaman yang telah lama dikenal dan digunakan oleh sebagian besar masyarakat Indonesia untuk pengobatan dan kesehatan. Akhir-akhir ini (*Bixa orellana*) di Inggris dan Amerika Serikat disebut annatto disadari sebagai penghasil bahan pewarna alami yang penting secara ekonomis nomor dua di dunia, setelah karamel. Bagian tanaman (*Bixa orellana*) yang sering dimanfaatkan sebagai pewarna alami adalah selaput bijinya (Suparmi dkk.,2008).

Potensi pigmen bixin pada selaput biji (*Bixa orellana L*) sebagai pewarna alami makanan, didukung oleh banyak hasil peneliti sebagai antigenotoksik, antikarsinogenik, anti jamur, dan anti inflamatori, sehingga diharapkan bermanfaat bagi kesehatan tubuh (Kurniawati dkk., 2007).

Disebagian besar negara-negara Eropa dan Amerika bixin telah dimanfaatkan sebagai pewarna makanan, obat, dan kosmetik. Selaput biji (*Bisa orellana L*) mengandung pigmen utama dari golongan di-apo karotenoid dengan komposisi bixin ( $C_{25}H_{30}O_4$ ) sebesar  $83,41 \pm 4,54\%$  (Suparni dkk., 2008)

Antioksidan merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas (Isnindar *dkk.*, 2011). Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Utomo *dkk.*, 2008). Radikal bebas yang dihasilkan secara terus menerus selama proses metabolisme normal, dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel-sel tubuh yang akhirnya menjadi pemicu timbulnya penyakit degeneratif (Juniarti *dkk.*, 2009).

Antioksidan mengandung senyawa fenolik atau polifenolik yang merupakan golongan flavonoid. Senyawa flavonoid sebagai antioksidan pada masa sekarang ini sangat banyak diteliti, karena senyawa flavonoid yang terdapat pada antioksidan memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi resiko yang dapat ditimbulkan oleh radikal bebas dan juga dapat dimanfaatkan sebagai anti-radikal bebas (Munisa *dkk.*, 2012). Tanaman yang dapat menghasilkan antioksidan alami salah satunya adalah kesumba keling (*Bixa orellana L.*). Kesumba keling mengandung tanin, steroid/terpenoid dan flavonoid (Dalimartha, 2009).

Salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH). Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH

tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 525 nm akan hilang (Molyneux, 2003).

Berdasarkan pada uraian tersebut peneliti ingin menguji aktivitas antioksidan ekstrak Biji Kesumba Keling menggunakan metode DPPH.

## **1.2. Batasan Masalah**

- a. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana L*)
- b. Metode yang digunakan untuk pembuatan Ekstak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*) yaitu metode Maserasi
- c. Metode pengujian uji aktivitas antioksidan Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*) yaitu metode DPPH.

## **1.3. Rumusan Masalah**

- a. Apakah terdapat aktivitas antioksidan dalam Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*) ?
- b. Berapakah kadar aktivitas antioksidan Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*)?

## **1.4. Tujuan Penelitian**

- a. Untuk mengetahui apakah antioksidan dalam Ekstrak Biji Kesumba keling (*Bixa orellana L*)
- b. Untuk mengetahui berapakah kadar aktivitas antioksidan Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*)

## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1.5.1. Bagi Akademik**

Karya Tulis ilmiah (KTI) ini dapat di jadikan dokumentasi tertulis dan diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai masukan yang membangun bagi perkembangan akademik dan menjadi referensi untuk kelanjutan penelitian bagi mahasiswa/i selanjutnya.

### **1.5.2. Bagi Peneliti Lanjutan**

Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini dapat dimanfaatkan dan dijadikan acuan referensi untuk peneliti selanjutnya dan juga menambah wawasan pengeahuan tentang uji aktivitas antioksidan pada buah kesumba kling menggunakan metode DPPH agar dapat di jadikan sebagai informasi untuk penelitian ilmiah selanjutnya.

### **1.5.3. Bagi Masyarakat**

Karya Tulis Ilmiah (KTI) tentang uji antioksidan ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan serta informasi tentang kelebihan dan manfaat buah kesumba kling kepada masyarakat agar bisa dimanfaatkan oleh masyarakat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Kajian Teori

##### 2.1.1. Buah Kesumba Keling (*Bixa orellana L*)



**Gambar 1. Tanaman Kesumba Keling (*Bixa orellana L*)**

##### a. Klasifikasi

Kingdom : *Plantae*  
Subkingdom : *Tracheobionta*  
Divisi : *Magnoliophyta*  
Kelas : *Magnoliopsida*  
Ordo : *Violales*  
Famili : *Bixaceae*  
Genus : *Bixa*  
Spesies : *Bixa orellana L*

Buah kesumba keling (*Bixa orellana L*) merupakan tanaman obat yang termasuk ke dalam famili tumbuhan Bixaceae (Dalimartha, 2000). Tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang kaya akan berbagai kandungan senyawa kimia antara lain, tanin, kalsium oksalat, saponin, lemak, flavonoid, polifenol, dan

minyak atsiri, terdapat juga zat warna diantaranya adalah biksin, norbiksin, orelin, dan zat samak. Bagian kulit mengandung merah masyarakat Indonesia, umumnya menggunakan secara tradisional untuk pewarna (Dalimartha, 2000).

Nama daerah kesumba keling antara lain yaitu kasumbo, kasumba, kusumba, batang kesumba, buah prada, delinggem, gelinggem, kunyit jawa (sumatera), galinggem, galugu, galuga, kesumba king, pacar kling, somba kling, ghalugha, kasombha, kasoba kleng (Jawa), sumba, tuwa, rapo parada, bunga parada, paparada, kasumba wo kayu (Sulawesi), taluka, galuga, kasumba, kasupa (Maluku), kasumba (Kalimantan) (Dalimartha, 2009 ; Depkes RI, 1995; Anonim, 2010).

#### b. Morfologi Tanaman

Kesumba keling adalah perdu atau pohon kecil dengan tinggi 2-8 m. Daunnya tunggal, bertangkai panjang, dan besar. Helai daunnya berbentuk bulat telur, ujungnya runcing, dengan pangkal yang rata dan kadang berbentuk jantung. Tepi daunnya rata, dengan pertulangan daun menyirip, ukuran daunnya: 8-20 cm × 5-12 cm, berwarna hijau berbintik merah. Pembungaan tumbuhan ini majemuk, dengan warna merah muda atau putih dengan diameter 4-6 cm. Buahnya seperti rambutan, tertutup rambut seperti sikat berwarna hijau sewaktu masih muda, dan merah tua apabila sudah masak. Buahnya pipih, panjang 2-4 cm, dan berisi banyak biji kecil berwarna merah tua (Rini, 2011).

### c. Kandungan

Kandungan kimia tanaman kesumba keling, terutama batang dan daunnya mengandung tanin, kalsium oksalat, saponin, dan lemak. Daun dan akar mengandung orellin, glukosida, zat samak dan damar sedangkan biji kesumba keling mengandung tanin, steroid/terpenoid, flavonoid dan zat warna bixin/norbixin. Kulit biji juga mengandung karotenoid yang memberi warna merah (Dalimartha, 2009 dan Anonim, 2010).

### d. Manfaat

Tanaman kesumba keling bagian yang digunakan dalam pengobatan adalah daun, kulit kayu, kulit akar, daging buah, kulit biji, dan biji. Daun kesumba keling digunakan untuk pengobatan penyakit disentri, diare, bengkak air (udem), perut kembung, masuk angin, sakit kuning, perdarahan, dan kurang nafsu makan. Kulit batang dan kulit akar digunakan untuk mengatasi demam dan influenza. Daging buah digunakan untuk mengatasi nyeri lambung (gastritis). Dan bubuk dari kulit biji kesumba keling digunakan untuk pengobatan cacangan, antidote pada keracunan singkong dan jarak pagar (*Jatropha curcas*) (Zahniar, 2011:6).

## 2.1.2. Antioksidan

### a. Pengertian Antioksidan

Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat

oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi, Sumber antioksidan yaitu:

1) Antioksidan Alami

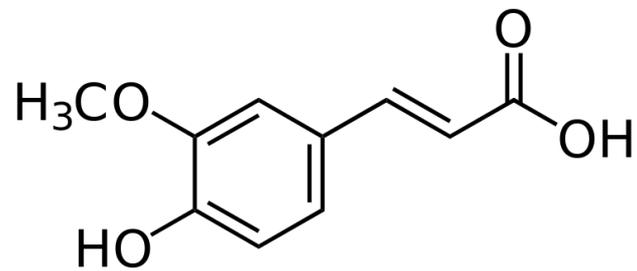
Antioksidan alami umumnya diperoleh dari senyawa fenolik atau polifenol tumbuhan yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, tokoferol, dan lain-lain (Ayucitra, 2011).

2) Antioksidan Sintetis

Antioksidan sintetis yang dikenal sebagai antioksidan paling efektif untuk minyak nabati adalah tert-butyl hydroquinon (TBHQ) (Ayucitra, 2011).

b. Manfaat Antioksidan

Antioksidan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan serta kesehatan dan kecantikan. Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat dkk. 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007).



**Gambar 2. Struktur Antioksidan**

Antioksidan merupakan suatu zat yang mampu menetralkan atau meredakan dampak negatif dari adanya radikal bebas. Radikal bebas sendiri merupakan suatu molekul yang mempunyai kumpulan elektron yang tidak berpasangan pada suatu lingkaran luarnya. Manfaat dari antioksidan untuk menangkalkan radikal bebas ini yang menjadikan antioksidan sangat banyak diteliti oleh para peneliti. Berbagai hasil penelitian, antioksidan dilaporkan dapat memperlambat proses yang dapat diakibatkan oleh radikal bebas seperti adanya tokoferol, askorbat, flavonoid, dan adanya likopen (Andriani, 2007).

### **2.1.3. Radikal Bebas**

#### **a. Pengertian Radikal Bebas**

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Menurut Winarti (2010), radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan

baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh.

Tubuh manusia mengandung molekul oksigen yang stabil dan yang tidak stabil. Molekul oksigen yang stabil penting untuk memelihara kehidupan sel. Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Fungsi radikal bebas dalam tubuh adalah untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah (Giriwijoyo, 2004).

b. Sumber

Sumber radikal bebas yang ada di tubuh manusia berasal dari 2 sumber, yaitu:

1. Sumber endogen

Sumber yang berasal dari endogen dapat dibagi menjadi:

- a) Autoksidasi, merupakan produk dari proses metabolisme aerobik.
- b) Oksidasi enzimatis, beberapa jenis sistem enzim mampu menghasilkan radikal bebas dalam jumlah cukup.
- c) Respiratory burst, proses dimana sel fagositik menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar selama fagositosis.

2. Sumber eksogen

berasal dari polusi udara, radiasi UV, sinar X, pestisida dan asap rokok.



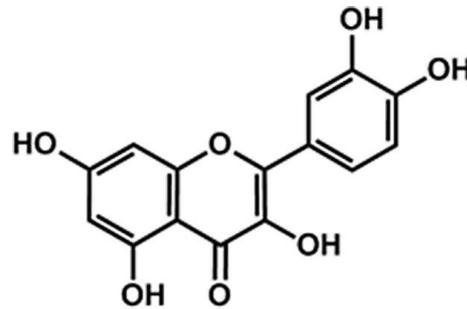
**Gambar 3. Struktur Radikal Bebas**

#### 2.1.4. Kuersetin

##### a. Pengertian Kuersetin

Kuesetin (Qurcetin) adalah salah satu zat aktif kelas flavonoid yang secara biologis amat kuat. Bila vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan 1, maka kuersetin memiliki aktivitas antioksidan 4,7. Flavonoid merupakan sekelompok besar antioksidan bernama polifenol yang terdiri atas antosianidin, biflavon, katekin, flavanon, flavon, dan flavonol. Kuersetin termasuk kedalam kelompok flavonol.

Kueesetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah ekitar 60-70% dari favonoid. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degenerative dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasin dari *Low Density Lipoproteins* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi.

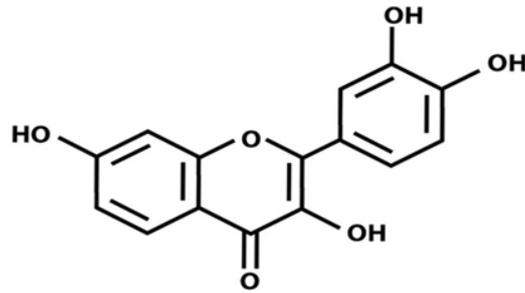


**Gambar 4. Rumus Struktur Kuersetin (Budavari, 1996)**

### 2.1.5. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari berbagai tanaman dengan lebih dari 8000 individu yang dikenali. Senyawa flavonoid sering diketahui manfaatnya sebagai antioksidan khususnya penangkap radikal bebas. Salah satu artikel jurnal pernah menyatakan bahwa kemampuan antioksidan dari flavonoid yaitu dapat mengurangi pembentukan radikal bebas dan menangkap radikal bebas (Pietta, 2000).

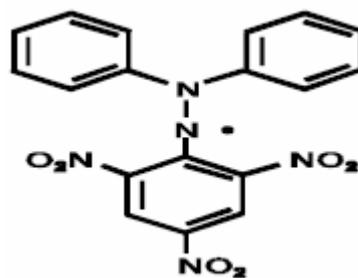
Kemampuan antioksidan flavonoid sendiri juga dapat dipengaruhi dari beberapa faktor salah satunya yaitu gugus fungsional yang berikatan pada struktur utamanya. Suatu hasil penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa aktivitas penangkapan radikal yang diuji pada flavonoid berhubungan dengan jumlah dan posisi ikatan gugus hidroksil dalam molekul (Ammar *dkk*, 2009).



**Gambar 5. Rumus kimia dari flavonoid (Ammar *dkk*, 2009)**

#### 2.1.6. DPPH ( *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* )

Penentuan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode DPPH. Metode uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dipilih karena metode ini adalah metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron.



**Gambar 6. Struktur DPPH**

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi

penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm (Vanselow,2007).

Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Prayoga, 2013).

#### **2.1.7. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan sifat tertentu, terutama ke larutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda. Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik. Bahan yang akan diekstrak biasanya berupa bahan kering yang telah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia (Sembiring, 2007).

#### **2.1.8. Metode Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan dari ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. ada beberapa cara ekstraksi yang dapat digunakan, pemilihan metode ini dilakukan dengan memerhatikan sifat dari senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia (Hanani, 2014).

Dalam pemilihan metode ekstraksi perlu banyak pertimbangan antara lain cara ekstraksi yang akan mempengaruhi hasil ekstrak yang didapat. Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan panas (Marjoni, 2016).

Adapun cara ekstraksi antara lain :

a. Ekstraksi Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan dapat diminimalisasi (Hanani, 2014).

Metode yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu metode maserasi, digunakan metode maserasi karena mudah dan sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam, saat perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik. Ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Hanani, 2014).

2. Perkolasi

Perlokasi adalah cara ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa tersari sempurna (Hanani, 2014).

## b. Cara panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya :

### 1. Refluks

Refluks adalah cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Hanani, 2014).

### 2. Soxhlet

Soxhlet adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet (Hanani, 2014).

### 3. Digestasi

Digestasi adalah proses maserasi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 40-50°C. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa (Hanani, 2014).

### 4. Infusa

Infusa adalah cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96°C tercapai) (Hanani, 2014).

## 5. Dekokta

Dekokta adalah cara ekstraksi yang hampir sama dengan infusa tetapi perbedaannya terletak pada lamanya waktu pemanasan yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air (Hanani, 2014).

### 2.1.9. Spektrofotometri

#### a. Pengertian Spektrofotometri

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 diabsorpsi. 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 (Gandjar,2007).

Pada spektrofotometri UV-Vis yang digunakan sebagai sumber sinar/energi adalah cahaya tampak (visible) cahaya visible termasuk spektrum elektromagnetik yang dapat ditangkap oleh mata manusia. Panjang gelombang sinar tampak adalah 380-750 nm semua sinar yang dapat dilihat oleh mata, maka sinar tersebut merupakan sinar tampak (visible), sumber sinar tampak yang biasanya digunakan pada spektro visible adalah lampu

tungsten. Sampel yang dapat dianalisa pada metode ini hanya sampel yang berwarna saja, ini merupakan salah satu kelemahan dari metode spektrofotometri, dengan begitu untuk sampel yang tidak berwarna harus dibuat berwarna terlebih dahulu dengan menggunakan reagen spesifik.

b. Prinsip Kerja

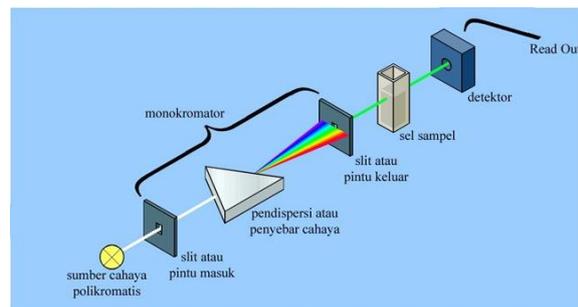
Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki, 2012).

Spektrum absorpsi dalam daerah-daerah ultra ungu dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-tampak. Oleh karena itu mereka mengandung electron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat elektron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energi tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunas, 2011).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang

terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya, 2013). Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari :

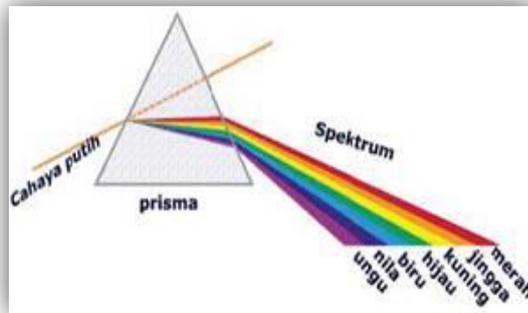
#### Sumber cahaya–monokromatis–sel sampel–detector–read out



**Gambar 7. Pembacaan Spektrofotometer**

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 di atas 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 di atas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya seperti yang tertera pada gambar.



**Gambar 8. Proses Dispersi Cahaya**

3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel

- a) UV, VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel.

Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Kuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.

- b) IR, untuk sampel cair dan padat (dalam bentuk pasta) biasanya dioleskan pada dua lempeng natrium klorida. Untuk sampel dalam bentuk larutan dimasukkan ke dalam sel natrium klorida. Sel ini akan dipecahkan untuk mengambil kembali larutan yang dianalisis, jika sampel yang dimiliki sangat sedikit dan harganya mahal.

4. *Detektor* berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Macam-macam detector yaitu *Detektor foto (Photo detector)*, *Photocell*, misalnya CdS, Phototube, Hantaran foto, Dioda foto, *Detektor panas*.

5. *Read out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari *detector*. Adapun hal-hal yang harus diperhatikan dalam spektrofotometri adalah :

- a) Pada saat pengenceran alat-alat pengenceran harus betul-betul bersih tanpa adanya zat pengotor.
- b) Dalam penggunaan alat-alat harus betul-betul steril.
- c) Jumlah zat yang dipakai harus sesuai dengan yang telah ditentukan.
- d) Dalam penggunaan spektrofotometri uv, sampel harus jernih dan tidak keruh.
- e) Dalam penggunaan spektrofotometri uv-vis, sampel harus berwarna.

Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Jika sinar monokromatik dilewatkan melalui suatu lapisan larutan dengan ketebalan ( $db$ ), maka penurunan intensitas sinar ( $dl$ ) karena melewati lapisan larutan tersebut berbanding langsung dengan intensitas radiasi ( $I$ ), konsentrasi spesies yang menyerap ( $c$ ), dan dengan ketebalan lapisan larutan ( $db$ ).

$$\text{Log} \frac{I_0}{I} = abc \text{ atau } A = abc \text{ (Hukum Lambert-Beer)}$$

Dimana :

A= Absorban

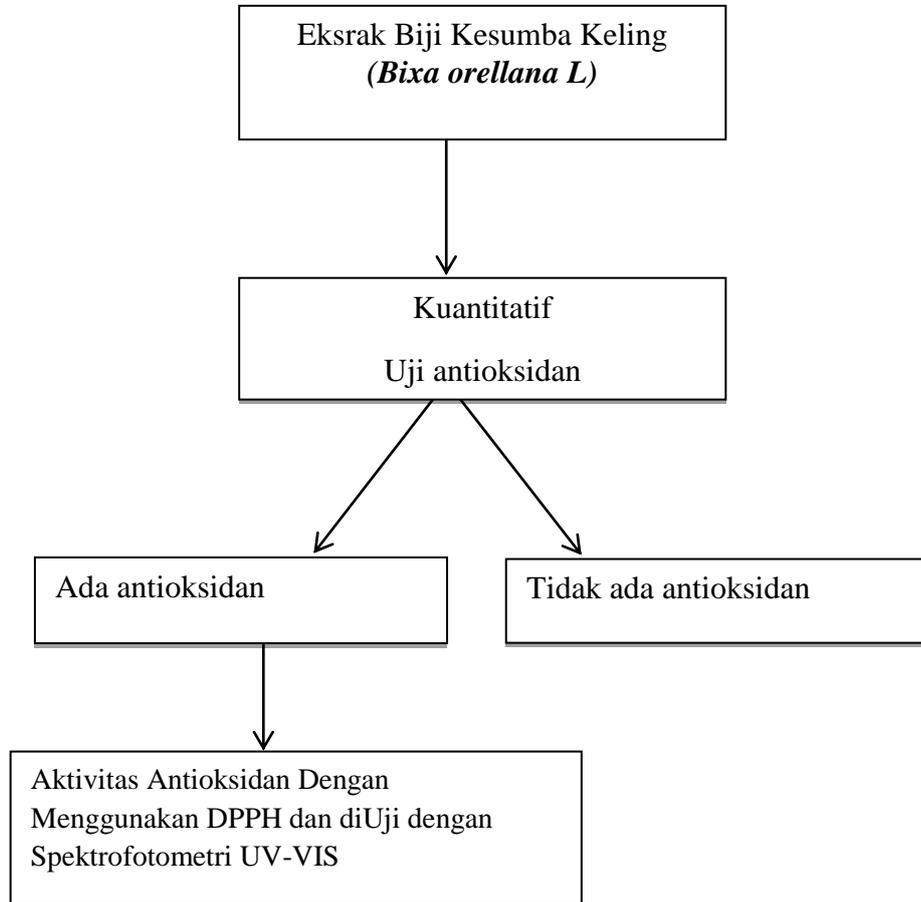
a= absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Bila Absorbansi (A) dihubungkan dengan Transmittan ( $T = I/I_0$ ) maka dapat diperoleh  $A = \log 1/T$ . *Absorptivitas* (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Tetapi tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi ( Hariadi, 2013).

## 2.2. Kerangka Konsep



**Gambar 9. Kerangka konsep**

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu yang sekitar bulan April – Mei 2020.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

##### **3.2.1. Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, timbangan digital (chq), botol gelap, serbet, batang pengaduk, kertas saring, erlemeyer, *rotary evaporator*, spektrofotometer, labu, tabung reaksi, penangas air, pipet volum, i, corong kaca, gelas ukur, *hot plat* (maspion), pipet tetes.

##### **3.2.2. Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96%, etanol *p.a*, aquadest, ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana L*), DPPH (*1,1-diphenyl-2-picylhydrazyl*) dan kuersetin.

#### **3.3. Prosedur Kerja Penelitian**

##### **3.3.1. Pembuatan Simplisia Biji Kesumba Keling**

###### **a. Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kesumba keling yang diambil didaerah Bengkulu tengah.

b. Verifikasi Tanaman

Verifikasi dilakukan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang digunakan, verifikasi ini dilakukan dilaboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam di Universitas Bengkulu.

c. Pengolahan Sampel

1. Pengumpulan bahan baku

Pengambilan dan pengumpulan bahan baku biji kesumba keling (*Bixa orellana L*). diambil pada saat buah kesumba keling sudah merah dan segar, buah kesumba keling dipetik dengan tangan dan diambil bagian bijinya.

2. Sortasi basah

Sampel dari biji kesumba keling (*Bixa orellana L*) kemudian dilakukan pemisahan dari kulit dari buah kesumba keling dan diambil bijinya.

3. Pengeringan

Pengeringan sampel dapat dilakukan dengan cara diangin-anginkan dengan suhu kamar.

4. Sortasi kering

Memisahkan kulit dari biji dan komponen yang masih melekat pada sampel.

## 5. Penyimpanan

Simplisia yang sudah diangin-anginkan dan disortasi kering kemudian disimpan dalam tempat atau wadah toples kaca yang tertutup rapat hal ini dilakukan untuk menjaga mutu simplisia.

### 3.3.2. Proses ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan merendam simplisia biji jesumba keling (*Bisa orellana L*) kedalam etanol 96% sampai terendam. Maserasi dilakukan dalam botol gelap selama 3 hari sekali dilakukan pengocokan kemudian ekstrak disaring untuk mendapatkan ekstrak cair. Maserat cair yang diperoleh dipekatkan dengan Ekstrak *rotary evaporator* pada suhu 50°C sehingga didapatkan ekstrak kental (Widarta, 2014).

### 3.3.3. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 3,5 mg DPPH dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur sampai 100 mL. Sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 35 ppm.

### 3.3.4. Pembuatan Larutan Induk Sampel

Sebanyak 25 mg sampel masing-masing dilarutkan dengan 50 mL etanol p.a dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 500 ppm. Selanjutnya dipipet larutan induk 500 ppm sebanyak 0,4 ml, 0,8 ml, 1,2 ml, 1,6 ml, dan 2 ml. Dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambah etanol p.a hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm.

### 3.3.5. Pembuatan Larutan Kuersetin sebagai pembanding

Sebanyak 5 mg larutan perbandingan dilarutkan dengan 50 ml ethanol p.a dalam labu ukur 50mL. Sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dalam ukur 50mL dengan menambahkan ethanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm.

### 3.3.6. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Sebanyak 3,5 mL larutan DPPH 35 ppm dan ditambahkan dengan 1 mL etanol. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

### 3.3.7. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 4 mL larutan DPPH 1000 ppm ditambah dengan masing-masing 1 mL larutan uji konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Sebagai pembanding digunakan kuersetin dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dengan perlakuan yang sama dengan larutan uji

### 3.3.8. Analisis Data

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorbansi blanko = Absorbansi DPPH

Absorbansi sampel = absorbansi antioksidan ekstrak biji kesumba keling dan kuersetin.

Data diolah menggunakan analisa dengan persamaan linier sederhana antara konsentrasi ekstrak biji kesumba keling dengan (%) aktivitas antioksidan. Kemudian dihitung nilai  $IC_{50}$  menggunakan persamaan linear yang sudah ada, rumusnya  $y = a+bx$ .

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian tentang “Uji Antioksidan Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*) Dengan Metode DPPH” telah dilaksanakan pada bulan April-Mei 2020 di Laboratorium Kimia Farmasi Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.

##### 4.1.1 Hasil Verifikasi Tanaman

Hasil verifikasi tumbuhan yang dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Bengkulu dengan nomor 27/ UN30.12.LAB.BIOLOGI/PM/2020, yaitu menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar *Bixa orellana L* dapat dilihat pada lampiran 1 halaman 40.

Penelitian ini menggunakan biji kesumba keling yang diambil langsung dari Bengkulu Tengah. Diambil buah kesumba keling (*Bixa orellana L*). Buahnya yang berwarna merah karena penelitian ini dikhususkan untuk biji (*Bixa orellana L*) yang berwarna merah. Sebelum melakukan penelitian, dilakukan verifikasi tanaman terlebih dahulu di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu, dengan membawa sampel tanaman mulai dari daun, batang, akar, dan buah. Tujuan dilakukan Verifikasi ini agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan sampel Kesumba Keling (*Bixa orellana L*).

Setelah dilakukan Verifikasi, dibuat ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana L*) dengan menggunakan metode maserasi. Keuntungan metode maserasi

yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Pelarut yang digunakan pada metode maserasi yaitu menggunakan pelarut etanol 96%. Pelarut etanol 96% adalah senyawa polar yang mudah menguap sehingga baik digunakan sebagai pelarut ekstrak dan pelarut ini sering digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid.

#### 4.1.2 Hasil Pembuatan Ekstrak Biji Kesumba Keling

Hasil pembuatan ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana L*) dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel I. Hasil Pembuatan Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* )**

Berat Sampel	Ekstrak	Etanol 96%	Rendemen
358,18 gr	30,62 gr	4.500 ml	8,54%

Pada tabel I. dapat dijelaskan bahwa berat sampel yang diperoleh yaitu 358,18gr. Dari proses maserasi yang menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 4.500 ml menghasilkan ekstrak kental sebesar 30,62 gr. Dan hasil uji rendemen yaitu 8,54% . Tujuan dilakukan rendemen yaitu untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal, semakin tinggi hasil rendemen yang didapat maka akan semakin banyak ekstrak yang ditarik. Standar umum nilai untuk rendemen jika tidak dinyatakan lain adalah 30%, sedangkan nilai rendemen ekstrak biji kesumba keling tidak kurang dari 6,2 %. Hasil dari presentase rendemen ekstrak etanol biji kesumba keling adalah ( 8,54%).

Metode uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode DPPH. Metode uji antioksidan menggunakan DPPH adalah salah satu metode uji



### 1.4.3 Hasil Analisa Uji Aktivitas Antioksidan Pada Sampel

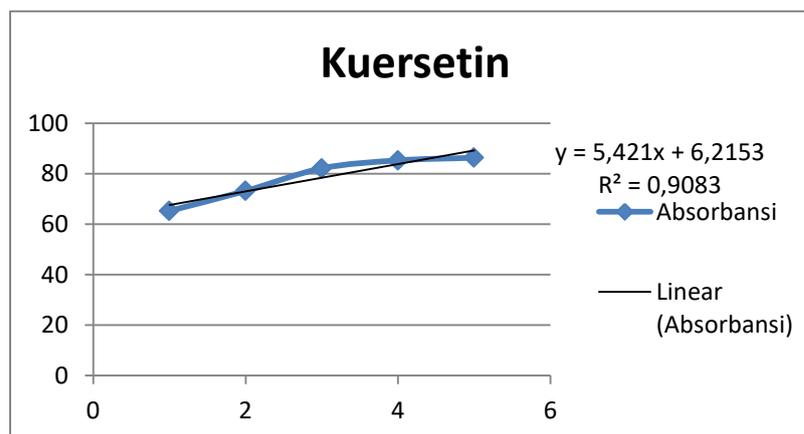
**Tabel II. Hasil Analisa Kuantitatif Antioksidan pada *Bixa orellana L* secara Spektrofotometri UV-Vis**

Sampel	Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi	% inhibisi	Persamaan grafis
Blanko	-	0,190		
Ekstrak biji kesumba keling	20	0,055	71,05%	$y = 5,631x + 6,310$ $R^2 = 0,910$
	40	0,050	73,68%	
	60	0,042	77,89%	
	80	0,033	82,63%	
	100	0,010	94,73%	
Kuersetin	2	0,066	65,26%	$y = 5,421x + 6,215$ $R^2 = 0,908$
	4	0,051	73,15%	
	6	0,034	82,10%	
	8	0,028	85,26%	
	10	0,026	86,31%	

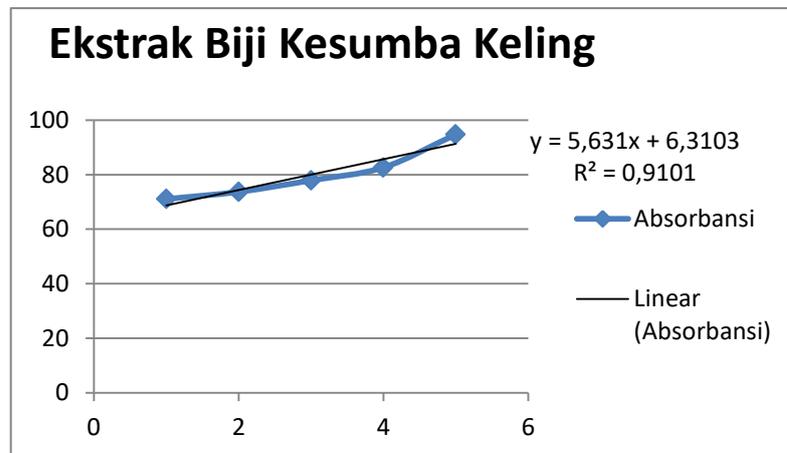
Absorbansi blanko DPPH sampel = 0,190

Ket : hasil tersebut merupakan hasil dari 1 kali pengukuran

Hasil uji antioksidan diperoleh dengan menghitung persentase aktivitas antioksidan yang di hitung dengan cara (Absorbansi blanko (DPPH) – Absorbansi perkonsentrasi sampel) dibagi dengan Absorbansi blanko dikali 100%.



**Gambar 11. kurva Kalibrasi Konsentrasi Kuersetin**



**Gambar 12. Kurva Kalibrasi konsentrasi Ekstrak Biji Kesumba Keling Dengan Aktivitas Antioksidan**

Pembuatan kurva kalibrasi ini berguna untuk membantu menentukan kadar antioksidan dalam sampel melalui persamaan regresi dan kurva kalibrasi didapat kurva kalibrasi dengan persamaan regresi  $y = 5,631x + 6,310$  dan harga koefisien korelasi ( $r$ ) yaitu  $R^2 = 0,910$ . Sedangkan untuk kurva kalibrasi larutan baku pembanding dengan persamaan regresi linear  $y = 5,421x + 6,215$  dan harga koefisien korelasi ( $r$ ) yaitu  $R^2 = 0,908$ .

#### 1.4.4 Hasil Analisis Data

**Tabel III. Nilai  $IC_{50}$  Ekstrak *Bixa orellana L* Dan Kuersetin**

Sampel Dan Baku Pembanding	Nilai $IC_{50}$
Ekstrak <i>Bixa orellana L</i>	7,7588 ppm
Kuersetin	8,0769 ppm

Uji antioksidan dalam penelitian ini menggunakan parameter  $IC_{50}$  untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode uji menggunakan DPPH.  $IC_{50}$  merupakan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) (Mailandari, 2012). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh. Jika nilai  $IC_{50}$  suatu ekstrak berada dibawah

50 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai  $IC_{50}$  berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai  $IC_{50}$  berada diantara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya sedang, nilai  $IC_{50}$  berada diantara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah sedangkan apabila nilai  $IC_{50}$  berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah (Molyneux, 2004).

larutan sampel dapat di tentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi dengan cara menghitung  $IC_{50}$  dimana didapat kadar antioksidan pada sampel = 7,7588 ppm. Sedangkan kadar untuk baku pembanding kuersetin berdasarkan  $IC_{50}$  adalah 8,0769 ppm. Pada penelitian yang dilakukan oleh peneliti didapatkan nilai  $IC_{50}$  sampel lebih kecil dibandingkan nilai  $IC_{50}$  baku pembanding Kuersetin.

Menurut Blois (1958) dijelaskan juga bahwa kisaran aktivitas antioksidan suatu bahan sangat kuat bila nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 51-100 ppm dinyatakan kuat, bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 101-250 ppm dinyatakan sedang, dan bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 251-500 ppm dinyatakan lemah, dan dikatakan tidak aktif bila nilai  $IC_{50}$  bernilai  $> 500$  ppm. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dapat dijelaskan bahwa ekstrak biji kesumba keling antioksidannya sangat kuat karena dibawah 50 ppm dan dibawah nilai baku pembanding kuersetin, hal ini bisa dilihat nilai  $IC_{50}$  Pada ekstrak biji kesumba keling adalah 7,7588 ppm.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

- a. Ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana L*) terdapat aktivitas antioksidan
- b. Kadar aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) yang di peroleh pada Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*) adalah = 7,7588 ppm

#### **5.2 Saran**

##### **5.2.1 Bagi Akademik**

Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini dapat dijadikan dokumentasi tertulis dan diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai masukan yang membangun bagi perkembangan akademik dan menjadi referensi untuk kelanjutan penelitian bagi mahasiswa/i selanjutnya.

##### **5.2.2 Bagi Peneliti Lanjutan**

Karya Tulis ilmiah (KTI) ini dapat dimanfaatkan dan dijadikan acuan referensi untuk penulis selanjutnya dan juga untuk menambah wawasan pengetahuan tentang aktivitas antioksidan pada ekstrak biji kesumba keling menggunakan metode DPPH agar dapat dijadikan sebagai informasi untuk penelitian ilmiah selanjutnya.

### **5.2.3 Bagi Masyarakat**

Karya Tulis ilmiah (KTI) tentang uji antioksidan ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan serta informasi tentang kelebihan dan manfaat biji kesumba keling kepada masyarakat agar bisa dimanfaatkan oleh masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ayucitra, A., Indraswati, N., Mulyandasari, V dkk. 2011. *Potensi Senyawa Fenolik Bahan Alam Sebagai Antioksidan Alami Minyak Goreng Nabati*. Widya Teknik Vol. 10, No. 1, 2011 (1-10).
- Azwar, Asrul (2010) "Pengantar Administrasi Kesehatan Jakarta" Bina Rupa Aksara.
- Andriani, Y, 2007, *Uji aktivitas antioksidan betaglukan dari Saccharomyces Cerevisiae, Jurnal Gradien*. 3 (1) : 226-230.
- Anonim, 2010. *Fenolik Bahan Alam Sebagai Antioksidan Alami Minyak Goreng Nabati*. Widya Teknik Vol. 10, No. 1, 2011 (1-10).
- Brand Williams, W., Cuvelier M.E., dan C. Berset., 1995. Use of A Free Radical Method to Evaluate Antioksidant Avtivity. *Food science and technology*, 28 (1) : 25-30.
- Dalimartha, S. 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- Gandjar, G.H., dan Rohman, A., (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta: hal.120, 164, 166.
- Guyton A.C. and J.E. Hall 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta: EGC. 74,76, 80-81, 244, 248, 606,636,1070,1340.
- Isnindar, Erna P.S., Subagus W., *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (Diospyroskaki Thunb.) Dengan Metode DPPH(2,2-Difenil-Pikrilhidrazin), Majalah Obat Tradisional*, 2011, 16(3):157-164).
- Juniarti, Osmeli, D., & Yuhernita. (2009). *Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (Brine shrimp lethality test) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl) dari ekstrak daun saga (Abrus precatorius L.)*. Makara Sains, 13(1), 50-54.
- Kurniawati, P., H. Soetjipto, dan Limantara, L., 2007, *Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Pigmen Bixin Selaput Biji Kesumba (Bixa orellana L.)*, Salatiga: Skripsi, Universitas Kristen Satya Wacana.
- Molyneux, P, 2003, The use of the stable free radikal diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology*. 26 (2): 211-219.

- Mailandari, M. 2012. *Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun garcinia kydia roxb. Dengan metode DPPH dan identifikasi senyawa kimia fraksi yang aktif*. Depok: Universitas Indonesia.
- Pietta, P-G, Flavonoid As Antioxidant, Reviews, *Journal National Product*, 1999, 63:1035-1042.
- Prayoga G. Fraksinasi, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* Lour). Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia. 2013.
- Rini, Sancaya dkk. 2011. *Pesona Warna Alam Indonesia*. Cetakan 1. Jakarta : Kehati.
- Risnawati, Nazliniwy, dan Djendakita Purba. 2012. *Formulasi Lipstik Menggunakan Ekstrak Biji Coklat*, 2012. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*, Vol. 1 (1): 78-86.
- Suparmi, Leenawaty Limantara, Budhi Prasetya. 2008. *Pengaruh Berbagai Faktor Eksternal Terhadap Stabilitas Pigmen Bixin dari Selaput Biji Kesumba (Bixa orellana L.) Potensi sebagai Pewarna Alami Makanan*. Penelitian Stabilitas Pigmen Bixin Kesumba ( diakses pada tanggal 5 Juni 2012).
- Sayuti, K. dan Rina Y. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press. Padang.
- Utomo, A. B., Suprijono, A., & Risdianto, A. (2008). *Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak sarang semut (Myrmecodia pendans) dan ekstrak teh hitam (Camellia sinensis O.K.var.assamica (mast.)) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)* Diunduh kembali dari <http://journal.stifar.ac.id/ojs/index.php/js/article/viewFile/6/7>.
- Wunas, Yeanny dan Susanti. 2011. *Analisa Kimia Farmasi Kuantitatif* (revisi kedua).
- Winarsi, H, 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.
- Widarta, I W.R. dan I W. Arnata. 2014. *Stabilitas aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah terhadap oksidator dan pemanasan pada berbagai pH*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 25(2) : 193-199
- Yahya.sripatundita *Jurnal Spektrofotometri Uv-Vis*. Diakses tanggal 8 Juni 2015.
- Yuniastuti, A. (2008). *Gizi dan Kesehatan*. Yogyakarta. Graha Ilmu.

**L**

**A**

**M**

**P**

**I**

**R**

**A**

**N**

*Lampiran 1. Verifikasi Tanaman*




**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**UNIVERSITAS BENGKULU**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**LABORATORIUM BIOLOGI**  
Jl. WR Supratman Kandang Limun Bengkulu Telp. (0736) 20199 ex. 205

---

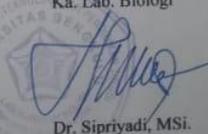
Surat Keterangan

Nomor : 27 / UN30.12.LAB.BIOLOGI/PM/2020

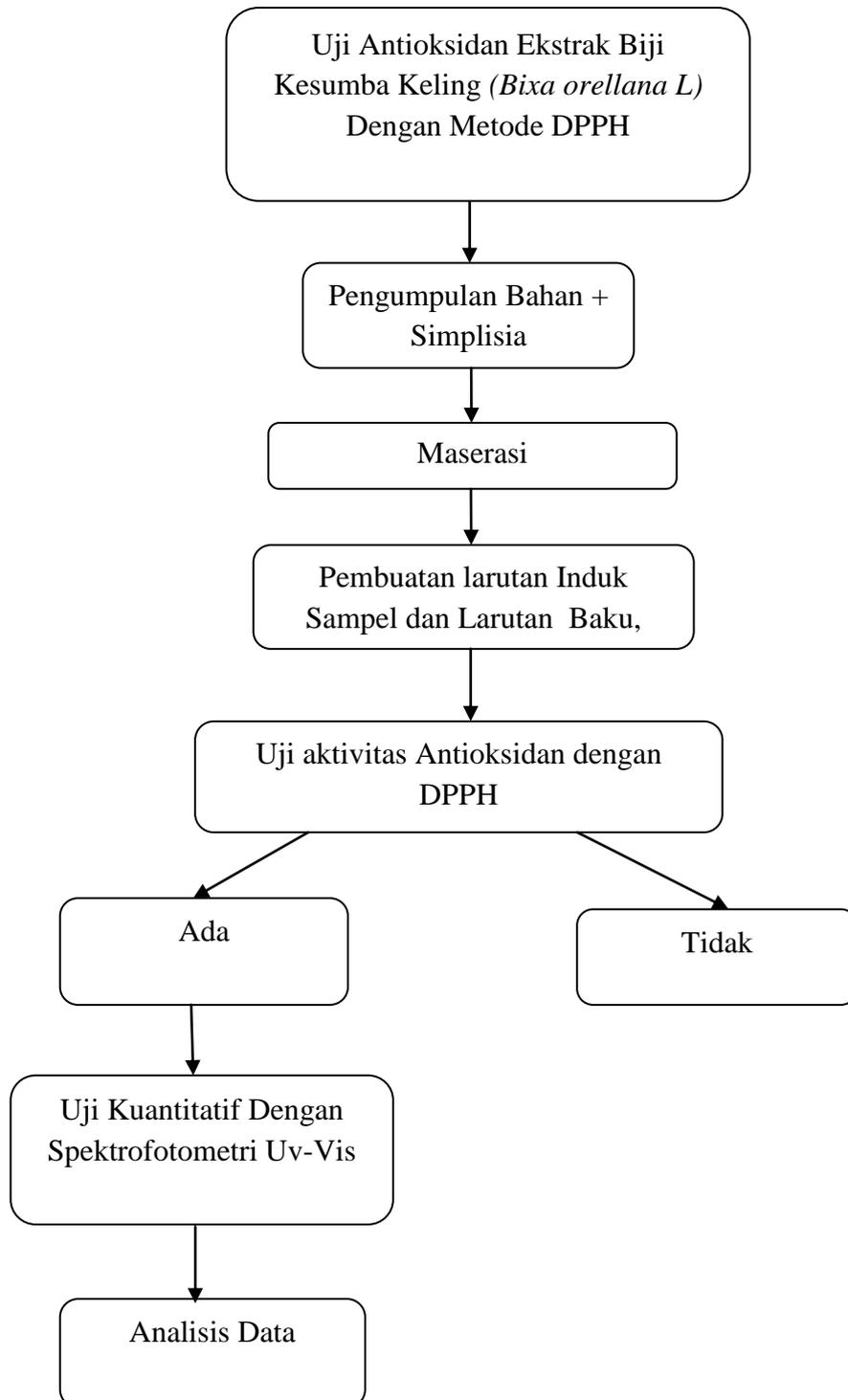
Telah dilakukan verifikasi taksonomi tumbuhan :

Ordo	:	Violales
Familia	:	Bixaceae
Nama Ilmiah	:	<i>Bixa orellana</i> L.
Nama Daerah	:	kesumba, sumba keling
Pelaksana	:	Dra. R.R. Sri Astuti, M.S. NIP. 196103281989012001
Pengguna	:	Hesti Lestari 17101047 Deri Regina Putri 17101025 Anisa Rizkiana 17101009

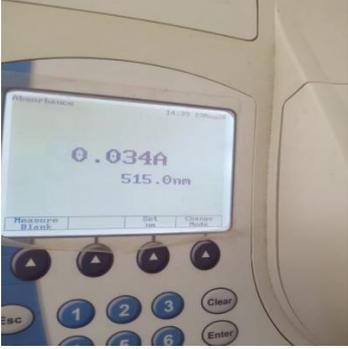
Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

20 April 2020  
 Ka. Lab. Biologi  
  
 Dr. Sipriyadi, MSi.  
 198409222008121004

**Gambar 14. Verifikasi Tanaman**

*Lampiran 2. Prosedur kerja***Gambar 15. Prosedur Kerja**

*Lampiran 3. Alat-alat Penelitian*

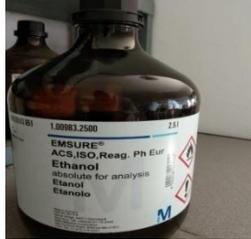
No	Nama Alat	Gambar
1.	Spektrofotometri	
2.	Pipet volume dan pipet kapiler	
3.	Spatel	
4.	Pipet tetes	

5.	Aluminium foil	
6.	Timbangan analitik	
7.	Kaca arloji	
8.	Erlenmeyer	
9.	Gelas ukur	

10.	Gelas ukur	
11.	Labu ukur 10 ml	

**Gambar 16 . Alat Penelitian**

*Lampiran 4. Bahan-bahan Penelitian*

No.	Bahan	Gambar
1	Etanol 96%	
2	Sampel	
3	Etanol p.a	
4	Kuersetin	
5	Dpph	

**Gambar 17. Bahan Penelitian**

*Lampiran 5. Proses Pengerjaan*

No	Keterangan Gambar	Gambar Alat
1	Sampel di masukan ke dalam botol gelap dan di + kan etanol 96%	
2	Proses penyaringan hasil maserasi menggunakan kertas saring	
3	Hasil maserasi setelah di pekatkan menggunakan rotary	
4	Sampel di timbang di timbangan analitik	
5	Larutan Smpel	

**Gambar 18. Proses Pengerjaan**

*Lampiran 6. Proses Pengerjaan*

No	Keterangan Gambar	Gambar Alat
1	Sampel setelah di timbang di timbangan analitik yang di letakan di kaca arloji	
2	Larutan induk dan larutan seri sampel	
3	Larutan seri Kuesetin	

**Gambar 19. Proses Pengerjaan**

*Lampiran 7. Hasil Spektrofotometri*



Hasil Konsentrasi 6 ppm      Hasil Konsentrasi 8ppm      Hasil Konsentrasi 10ppm

**Gambar 20. Hasil Spektrofotometri**

*Lampiran 8. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang*

The image shows a printed document with a table of experimental data. The table has several columns, likely representing different parameters of the wave measurement. A blue horizontal line is drawn across the lower part of the table, possibly indicating a specific range of data or a calculated average. The text on the document is small and difficult to read, but the structure of the table is clear.

**Gambar 21. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang**

*Lampiran 9. Rumus Kadar IC<sub>50</sub>*Ekstrak *Bixa orellana* L:

$$Y = 5,631x + 6,310$$

$$50 = 5,631 + 6,310$$

$$X = \frac{50-6,310}{5,631}$$

$$= 7,7588 \text{ ppm}$$

Kursetin :

$$Y = 5,421x + 6,215$$

$$50 = 5,421x + 6,215$$

$$X = \frac{50-6,215}{5,421}$$

$$= 8,0769 \text{ ppm}$$

*Lampiran 10. Perhitungan % Inhibisi*

**Perhitungan % inhibisi :**

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansiblangko} - \text{absorbansisampel}}{\text{absorbansiblangko}} \times 100 \%$$

% inhibisi sampel :

$$\text{a. } 20 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,055}{0,190} \times 100\% = 71,05\%$$

$$\text{b. } 40 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,050}{0,190} \times 100\% = 73,68\%$$

$$\text{c. } 60 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,042}{0,190} \times 100\% = 77,89\%$$

$$\text{d. } 80 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,033}{0,190} \times 100\% = 82,63\%$$

$$\text{e. } 100 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,010}{0,190} \times 100\% = 94,73\%$$

% inhibisi Kuersetin

$$\text{a. } 2 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,066}{0,190} \times 100\% = 65,26\%$$

$$\text{b. } 4 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,051}{0,190} \times 100\% = 73,15\%$$

$$\text{c. } 6 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,034}{0,190} \times 100\% = 82,10\%$$

$$\text{d. } 8 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,028}{0,190} \times 100\% = 85,26\%$$

$$\text{e. } 10 \text{ ppm} = \frac{0,190 - 0,026}{0,190} \times 100\% = 86,31\%$$