

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Perkembangan pola hidup dalam kehidupan sehari-hari menyebabkan berbagai penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas. Menurut WHO hingga saat ini penyakit degeneratif telah menjadi penyebab kematian terbesar di dunia. Hampir 17 juta orang meninggal lebih awal setiap tahun akibat epidemic global penyakit degeneratif. Asap rokok, paparan sinar matahari berlebih, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luar, termasuk atom hydrogen, logam transisi dan molekul oksigen (Halliwell & gutteridge, 2000).

Upaya untuk mencegah atau mengatasi penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, diperlukan senyawa yang mampu untuk menanggulangi efek radikal bebas yaitu senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat proses oksidasi dari radikal bebas. Mekanisme kerja senyawa antioksidan salah satunya yaitu dengan cara mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal (Lee dkk., 2004). Berdasarkan sumbernya antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan sintetik dan alami. Antioksidan sintetik mempunyai efektivitas tinggi, namun belum tentu aman bagi kesehatan. Antioksidan alami memiliki keuntungan yaitu aman karena tidak terkontaminasi zat kimia dan mudah diperoleh (Pokorny and Korczak, 2001).

Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari (Prat, 1992).

Indonesia memiliki sumber daya alam yang sangat melimpah. Sebagai negara beriklim tropis, tanah di Indonesia sangat subur dan cocok ditumbuhi berbagai macam tanaman, dari berbagai macam jenis dan spesies. (Maenthaisong dkk., 2007). Lidah buaya mengandung golongan senyawa metabolit sekunder, seperti antrakuinon, tanin, saponin dan flavonoid (Das dkk., 2011). Lidah buaya juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Hart *et al.*, 1990; Sabeih *et al.*, 1993). Konsentrasi tertinggi flavonoid dalam buah-buahan dan sayuran cenderung ditemukan di daun, kulit dan biji dan setiap metode pengolahan hampir selalu membuang bagian-bagian ini (Clayton, 2008). Kulit lidah buaya saat ini hanya menjadi limbah, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menjadikan kulit lidah buaya lebih bermanfaat bagi masyarakat dan meningkatkan pemberdayaan kekayaan sumber alam Indonesia.

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah electron kepada senyawa radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi stabil (Kandaswani and Middleton, 1997). Adanya glikosida pada senyawa flavonoid menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air (Markham, 1988). Teknik yang biasanya digunakan untuk tahap fraksinasi adalah partisi cair-cair. Dasar dari pemisahan cara partisi cair-cair adalah pemisahan dua senyawa atau lebih berdasarkan perbedaan kelarutan dengan syarat dua pelarut mempunyai sifat tidak saling bercampur (Sudjadi, 1986).

Total fenolik dan kandungan flavonoid dari uji aktivitas menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Powder*) menunjukkan bahwa lidah buaya merupakan sumber antioksidan yang baik (Botes *et al.*, 2008; Sultana *et al.*, 2009).

Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan non polar. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson, 1985) serta menarik golongan senyawa fenolik secara optimum (Faujan *et al.*, 2009)

Prahseti dkk (2015) melakukan penelitian ekstrak metanol *aloe vera* Linn menggunakan fraksinasi, salah satunya fraksi air dengan total fenolat sebesar 16.5 mg/g. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> dari fraksi air sebesar 433mg/L.

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) dengan cara fraksinasi menggunakan metode DPPH. Penggunaan DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Blois, 1958). Untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid pada kulit lidah buaya dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang akan menunjukkan warna kuning setelah diuapi dengan amoniak.

## B. Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) memiliki aktivitas antioksidan?
2. Seberapa besar potensi antioksidan fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang dinyatakan dengan  $IC_{50}$ ?
3. Apa saja senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.)?

## C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Melakukan uji aktivitas antioksidan dari fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
2. Mengetahui potensi antioksidan dari fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang ditunjukkan nilai  $IC_{50}$  dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
3. Melakukan identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

#### D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah bukti ilmiah pemanfaatan kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang memiliki aktivitas antioksidan agar penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes dan hiperkolestrol, yang disebabkan radikal bebas dapat terkendali. Hasil penelitian juga diharapkan sebagai bukti ilmiah pemanfaatan kulit lidah buaya sehingga kulit lidah buaya tidak hanya sebagai limbah tetapi juga untuk peningkatan kesehatan.

#### E. TINJAUAN PUSTAKA

##### 1. Lidah Buaya (*Aloe vera* L)

###### a. Klasifikasi

Kedudukan Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) dalam sistematika tanaman (taksonomi) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta / Spermatophyta
Sub Divisio	: Magnoliophyta / Angiospermae
Class	: Liliopsida / Dicotyledoneae
Ordo	: Liliales
Family	: Asphodelaceae
Genus	: <i>Aloe</i>
Species	: <i>Aloe vera</i> L. (Backer and Brink, 1968).

b. Morfologi

Lidah buaya merupakan habitus semak, tinggi 30-50 cm. Batang lidah buaya berbentuk bulat, tidak berkayu dan berwarna putih. Daun lidah buaya tunggal, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, panjang 30-50 cm, lebar 3-5 cm, berdaging tebal dan bergetah kuning atau hijau. Lidah buaya memiliki bunga majemuk, bentuk malai, terdapat di ujung batang, daun pelindung panjang 8-15 mm, benang sari ada enam, putik menyembul keluar atau melekat pada pangkal kepala sari, tangkai putik bentuk benang, kepala putik kecil, hiasan bunga panjang 2,5-3,5 cm, tabung pendek, ujung tajuk melebar dan berwarna jingga atau merah. Buah lidah buaya berbentuk kotak, panjang 14-22 cm, berkatup dan berwarna hijau keputih-putihan. Biji kecil dan berwarna hitam. Lidah buaya memiliki akar serabut dan berwarna kuning (BPOM RI, 2008). Tanaman lidah buaya dapat dilihat dalam Gambar 1 sebagai berikut :



**Gambar 1. Tanaman Lidah Buaya (BPOM RI, 2008)**

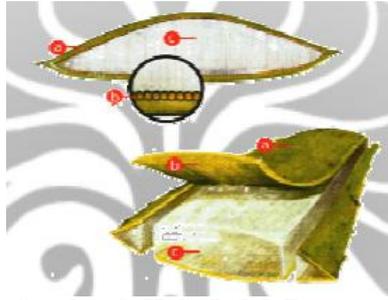
Struktur lidah buaya terdiri dari : kulit lidah buaya, getah yang mengandung antrakuinon, gel daging beserta lapisan mucilage. Kulit lidah

buaya merupakan lapisan terluar yang berwarna hijau dan terdiri dari 15-18 lapisan sel yang memiliki sifat fisik protektif dan terdapat kloroplas. Lapisan kulit pada lidah buaya mengandung seluruh bahan fotosintesis dan merupakan tempat terjadinya sintesis dari seluruh bahan nutrisi alami yang ada dalam lidah buaya seperti karbohidrat, lemak, protein dan vitamin (Barcroft, 2003).

Dibawah lapisan kulit terdapat bundel vaskular yang memiliki tiga tipe struktur tubular yaitu xilem yang berfungsi sebagai alat transportasi air dan mineral dari akar menuju kulit, floem sebagai alat transportasi bahan-bahan sintesis lainnya menuju akar dan perisiklik tubulus yang mengandung getah berwarna kekuningan yang memiliki sejumlah besar antrakuinon diantaranya adalah aloin, aloe emodin, *chryospharic acid*, *volatile oil*, resins, aglycones dan b-glycosides. Getah lidah buaya memiliki rasa pahit, bau yang tajam dan memiliki sifat yang berbeda dengan gel daging lidah buaya yaitu efek laksatif yang kuat karena antrakuinon yang terkandung di dalamnya (Assunta, 2006).

Lapisan mucilage merupakan lapisan tempat bundel vaskular terikat pada lapisan dalam kulit dan memiliki kandungan yang tinggi akan manfaat. Lapisan ini memiliki sejumlah senyawa yang disintesis oleh sel bundel vaskular melalui proses fotosintesis dalam sel kulit (Assunta, 2006).

Gambar kulit lidah buaya dapat dilihat sebagai berikut :



**Gambar 2. Kulit Lidah Buaya**

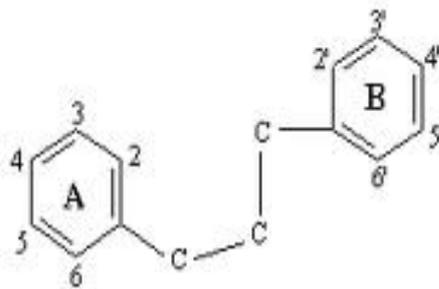
c. Kandungan kimia

Salah satu kandungan kimia dalam Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) adalah flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988).

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji. Penyebaran jenis flavonoid pada golongan tumbuhan yang terbesar, yaitu angiospermae (Markham, 1988).

Flavonoid adalah senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, air, dimetilsulfoksida (DMSO) dan dimetilformamida (DMF). Gula yang terikat pada flavonoid (bentuk umum yang ditemukan) menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air, sehingga campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih

baik untuk glikosida (Markham, 1988). Senyawa flavonoid juga dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah dan juga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker (Winarsi, 2007). Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3 sebagai berikut :



Gambar 3. Struktur flavonoid (Markham, 1988)

d. Khasiat Tanaman

Lidah buaya telah digunakan selama berabad-abad sebagai agen terapi dan pengobatan (Habeeb *et al.*, 2007; Hamman, 2008), antibakteri, antijamur dan antivirus (Vogler *et al.*, 1999) serta kemampuannya untuk mengobati hiperlipidemia dan gejala psoriasis (Choonhakarnet *et al.*, 2010). Selain itu, lidah buaya mampu mengurangi penyerapan air pada usus dan membantu memperlancar buang air besar, sehingga lidah buaya banyak digunakan sebagai laksatif (Grindlay *et al.*, 1896). Lidah buaya juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Hart *et al.*, 1990; Sabeh *et al.*, 1993).

Lidah buaya bermanfaat untuk menurunkan kadar gula dalam darah bagi penderita diabetes, mengontrol tekanan darah dan menstimulasi kekebalan tubuh terhadap serangan penyakit kanker (Furnawanthi, 2002).

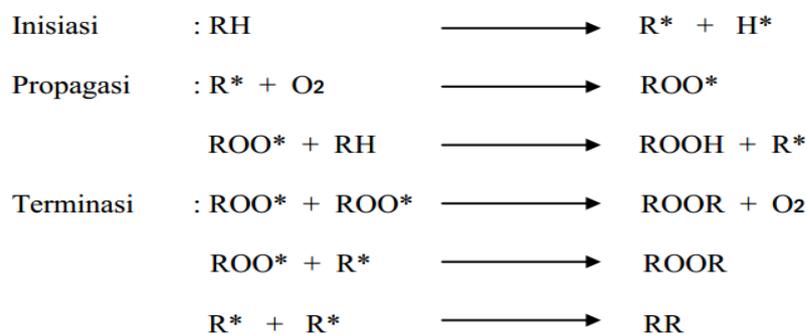
Lidah buaya mengandung beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, kalium, sodium, besi, zinc dan kromium. Beberapa vitamin dan mineral tersebut dapat berfungsi sebagai pembentuk antioksidan alami, seperti fenol, flavonoid, vitamin C, vitamin E, vitamin A dan magnesium. Antioksidan ini berguna untuk mencegah penuaan dini, serangan jantung dan berbagai penyakit degeneratif (Astawan dan Kasih, 2008).

## 2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Clarkson and Thompson, 2000). Kebanyakan radikal bebas bereaksi secara cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas normalnya berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum menyatu dengan atom lain. Simbol untuk radikal bebas adalah sebuah titik yang berada di dekat simbol atom ( $R\bullet$ ). ROS (*Reactive Oxygen Species*) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion* ( $O_2\bullet^-$ ), *hydroxyl radicals* ( $OH\bullet$ ), dan *peroxyl radicals* ( $RO_2\bullet$ ). Yang non radikal misalnya *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ), dan *organic peroxides* ( $ROOH$ ) (Halliwell and Whiteman, 2004). Radikal bebas dalam tubuh dapat terbentuk melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti asap rokok, polusi lingkungan, ultraviolet (UV) dan lain sebagainya (Winarsi, 2007).

Radikal bebas yang berlebihan atau produksi antioksidan yang tidak mencukupi dapat menyebabkan kerusakan dari sel-sel jaringan dan enzim di dalam tubuh. Kerusakan jaringan terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas asam lemak atau yang biasa dikenal sebagai peroksidasi lipid. Selain peroksidasi lipid, kerusakan sel juga disebabkan oleh peroksidasi protein dan kerusakan DNA (Arief, 2007).

Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen. Tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi. Radikal peroksida lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru. Tahap terminasi terjadi penggabungan radikal-radikal bebas membentuk produk non radikal yang stabil (Shahidi and Wanasundara, 2002). Gambar mekanisme oksidasi lemak dapat dilihat sebagai berikut :



**Gambar 4. Mekanisme Oksidasi Lemak (Shahidi and Wanasundara, 2002)**

### 3. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja radikal bebas dengan cara menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang dapat ditimbulkan. Penggunaan senyawa antioksidan berkembang seiring dengan semakin bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan kanker (Pokorny *et al.*, 2001).

Terdapat tiga jenis antioksidan yaitu, antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim-enzim, antioksidan alami yang diperoleh dari hewan dan tumbuhan dan antioksidan sintetis yang dibuat dari bahan-bahan kimia (Kumalaningsih, 2006).

Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Senyawa fenol sintetis seperti Butil hidroksianisol (BHA) dan Butil hidroksitoluen (BHT) bukan antioksidan yang baik, sebab pada pemaparan yang lama dapat menyebabkan efek negatif terhadap kesehatan serta meningkatkan terjadinya karsinogenesis (Ito *et al.*, 1986).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah yang berasal dari tumbuhan yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari (Pratt, 1992). Senyawa antioksidan alami

tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat dan lain-lain (Nakatani, 1992).

#### **4. Vitamin C**

Vitamin C adalah nutrien dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin ini juga dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Vitamin C dikenal sebagai antioksidan terlarut air, vitamin C juga secara efektif mengambil formasi ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan radikal bebas (Frei, 1994).

Vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor asam askorbat akan mendonorkan satu elektron membentuk semi dehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al.*, 2007).

#### **5. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap

komponen lain dalam campuran (Depkes RI, 2000). Sebelum memulai ekstraksi, dilakukan persiapan bahan baku yang mencakup pengeringan bahan sampai kadar air tertentu dan penggilingan bahan untuk mempermudah proses ekstraksi. Selain itu, tingkat kemudahan ekstraksi bahan kering masih ditentukan oleh ukuran partikel bahan. Bahan yang akan diekstrak sebaiknya berukuran seragam untuk mempermudah kontak antar bahan dengan pelarut (Purseglove *et al.*, 1981).

Pelarut yang biasa digunakan air, eter atau campuran etanol dan air. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua macam, yaitu metode dingin dan metode panas. Metode dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi, sedangkan metode panas terdiri dari refluks, soxhletasi, digesti, infus dan dekok. Metode ekstraksi biasanya dipilih berdasarkan sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi serta kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau bahkan mendekati sempurna dari bahan obat. Sifat dari suatu bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi (Ansel, 1989).

Maserasi adalah proses dimana suatu bahan obat yang sudah halus direndam dalam cairan penyari sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat mudah larut akan melarut (Depkes RI, 2000). Bahan yang akan diekstraksi ditempatkan dalam bejana bermulut lebar, bersama cairan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang sehingga cairan penyari akan menembus dinding sel kemudian masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga melarutkan zat aktif. Ampasnya dapat

dipisah dengan cara disaring dengan penambahan cairan penyari sampai ampas bebas dari ekstrak. Maserasi umumnya dilakukan pada suhu 15-20°C selama tiga hari sampai bahan-bahan yang diinginkan melarut (Ansel, 1989).

## **6. Partisi Cair-Cair**

Teknik yang biasa digunakan untuk tahap fraksinasi adalah partisi. Dasar dari pemisahan cara partisi adalah pemisahan dua senyawa atau lebih berdasarkan perbedaan kelarutan dengan syarat dua pelarut mempunyai sifat tidak saling bercampur (Sudjadi, 1986). Partisi cair-cair adalah proses pemisahan zat terlarut didalam dua macam zat pelarut yang tidak saling bercampur antara pelarut organik dan pelarut air. Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut polar yaitu air. (Depkes RI, 1979). Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air. Pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, air merupakan campuran pelarut yang mudah larut dalam air (Markham, 1988).

## **7. Spektrofotometri**

Spektrofotometri adalah suatu metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan monokromatis oleh larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor *phototube* (Khopkar, 1990).

Teknik yang biasa digunakan dalam analisis meliputi spektrofotometer ultraviolet, infra merah dan cahaya tampak (visibel). Panjang gelombang spektrofotometer ultraviolet adalah 190-350 nm dan cahaya tampak atau visibel adalah 350-780 nm (Depkes RI, 1995). Gugus fungsi yang menyerap radiasi di

daerah ultraviolet dan cahaya tampak (visibel) disebut gugus kromofor (Dachriyanus, 2004).

Prinsip kerja spektrofotometer adalah bila cahaya (monokromatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan, sebagian diserap dalam medium itu dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel (Rohman, 2007).

Besarnya serapan (absorbansi) sebanding dengan besarnya konsentrasi (c) larutan uji. Pernyataan ini dikenal dengan Hukum Lambert Beer :

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Dimana :

A = absorban

a = absorptivitas

b = tebal laju larutan

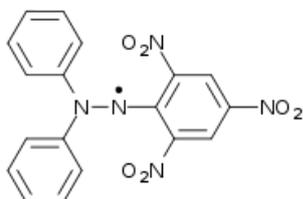
c = konsentrasi larutan yang diukur

$\epsilon$  = tetapan absorptivitas molar

(Dachriyanus, 2004).

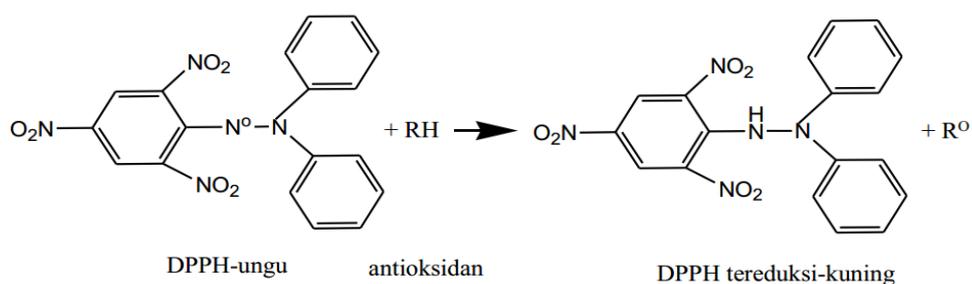
#### 8. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah suatu radikal sintetik yang stabil, larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol, serta dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 515-517 nm. DPPH dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen yang berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak (Molyneux, 2004). Struktur kimia DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dapat dilihat pada Gambar 5 sebagai berikut :



**Gambar 5. Struktur Kimia DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Molyneux, 2004)**

Prinsip reaksi dari metode ini adalah penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH. Mekanisme yang terjadi adalah reaksi penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) warna ungu dan diubah menjadi DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazilin) warna kuning. Pemudaran warna akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari spektrofotometer. Semakin pudarnya warna DPPH setelah direaksikan dengan antioksidan menunjukkan kapasitas antioksidan yang semakin besar pula (Benabadji *et al.*, 2004). Reaksi radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 6 sebagai berikut :



**Gambar 6. Reaksi Radikal Bebas DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Rohmatussolihat, 2009)**

## 9. Inhibition Concentration<sub>50</sub> (IC<sub>50</sub>)

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub> atau *Inhibitor Concentration*<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> didefinisikan sebagai konsentrasi larutan sampel yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas DPPH sebanyak 50% yang dilihat dari pengurangan intensitas warna ungu. Harga IC<sub>50</sub> berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat sebagai antioksidan. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004).

Spesifitas daya antioksidan menurut Blois (1958) adalah :

Sangat kuat	: IC <sub>50</sub> < 50 ppm
Kuat	: 50 ppm > IC <sub>50</sub> < 100 ppm
Sedang	: 100 ppm > IC <sub>50</sub> < 150 ppm
Lemah	: 150 ppm > IC <sub>50</sub> < 200 ppm
Sangat lemah	: IC <sub>50</sub> > 200 ppm

## 10. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi digunakan untuk memisahkan komponen yang terkandung dalam ekstrak dimana komponen tersebut terdistribusi di antara dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Kromatografi lapis tipis merupakan metode yang mudah, cepat, tidak mahal dan memiliki kelebihan dibanding kromatografi kertas yang memiliki keterbatasan dalam penggunaan fase geraknya (Striegel dan Hill, 1996).

Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap (kromatografi cair-padat) atau sebagai penyangga untuk lapisan zat cair (kromatografi cair-cair). Fase diam yang sering dipakai adalah silika gel (asam

silikat), alumina (alumina oksida), kiselgur (tanah diatom) dan selulosa (Fried dan Sherma, 1999). Selain itu, fase diam agar dapat memadamkan fluoresensi semua senyawa di bawah sinar  $UV_{254}$  haruslah mengandung indikator fluoresensi (Gandjar dan Rohman, 2009).

Fase gerak merupakan media transport komponen yang akan dipisahkan. Komponen tersebut akan memisah berdasarkan kapilaritas dan hasil gaya tarik dari fase gerak dan gaya hambat dari fase diam. Fase gerak di dalam kromatografi lapis tipis dapat berupa pelarut tunggal ataupun campuran pelarut (Fried dan Sherma, 1999).

Kromatogram yang telah dielusi dengan fase gerak dapat dideteksi dengan berbagai cara. Deteksi kromatogram akan lebih mudah dilakukan apabila senyawa yang dipisahkan memiliki warna, berpendar atau menyerap sinar ultraviolet. Penyerapan sinar ultraviolet biasanya terjadi pada senyawa yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi atau senyawa aromatik. Akan tetapi tidak semua senyawa memiliki warna, berpendar, ataupun menyerap sinar ultraviolet secara alami, sehingga perlu diberi pereaksi penampak bercak sehingga dapat menghasilkan warna atau pendaran (Sherma, 1994).

Senyawa flavonoid pada suasana basa akan berubah warna menjadi kuning terang atau jingga, sedangkan pada larutan asam maupun netral tidak berwarna. Perubahan warna ini disebabkan oleh pembentukan garam dan terbentuknya struktur uinoid pada cincin B flavonoid (Robinson, 1995).

Pengamatan pada kromatografi lapis tipis dilakukan dengan cara melihat nilai  $R_f$  (*Retardation factor*) dari solut. Nilai  $R_f$  didefinisikan sebagai jarak yang

ditempuh solut dibagi jarak yang ditempuh fase gerak. Rumusnya adalah sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

(Gandjar dan Rohman, 2009).

Nilai  $R_f$  dinyatakan hingga angka 1,0. Nilai  $R_f$  yang baik yang menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8 (Gandjar dan Rohman, 2009).

#### **F. Landasan Teori**

Penelitian yang dilakukan oleh (Botes *et al.*, 2008) pada ekstrak etanol (95%) gel daun lidah buaya menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan kandungan flavonoid sebesar  $20,2 \pm 0,5$  mg/100g. Sultana *et al.*, 2009 melakukan penelitian pada ekstrak daun lidah buaya menggunakan empat pelarut yang berbeda yaitu metanol absolut, metanol 80%, etanol absolut dan etanol 80%. Kandungan flavonoid ekstrak daun lidah buaya dari masing-masing pelarut yang digunakan yaitu sebesar  $2,91 \pm 0,16$  g/100g,  $4,28 \pm 0,17$  g/100g,  $1,68 \pm 0,02$  g/100g dan  $2,96 \pm 0,04$  g/100g. Aktivitas penghambatan DPPH dari masing-masing pelarut yaitu  $73,7 \pm 1,3\%$ ,  $80,1 \pm 2,3\%$ ,  $67,2 \pm 1,9\%$  dan  $70,7 \pm 1,2\%$ .

Kandungan fenolik dan flavonoid dalam ekstrak etanol (80%) kulit lidah buaya yang dilakukan oleh (Moniruzzaman *et al.*, 2012) yaitu sebesar  $62,37 \pm 1,34$  mg/kg dan  $20,83 \pm 0,77$  g/kg. Penelitian yang dilakukan (Aji dkk.,2014) pada ekstrak metanol daging daun lidah buaya menunjukkan bahwa pada konsentrasi

200 ppm mampu menghambat DPPH sebesar 38.88%. Prahseti dkk (2015) melakukan penelitian ekstrak metanol *aloe vera* Linn menggunakan fraksinasi, salah satunya fraksi air dengan total fenolat sebesar 16.5 mg/g. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  dari fraksi air sebesar 433mg/L.

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah electron kepada senyawa radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi stabil (Kandaswani and middleton, 1997). Adanya glikosida pada senyawa flavonoid menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air (Markham, 1988).

### G. HIPOTESIS

Berdasarkan landasan teori, hipotesis yang diajukan adalah :

1. Fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
2. Fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) berpotensi sebagai antioksidan yang ditunjukkan nilai  $IC_{50}$  dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
3. Fraksi air ekstrak metanol kulit lidah buaya (*Aloe vera* L.) mengandung senyawa flavonoid dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis).