

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN EKSTRAK
ETANOL BIJI DURIAN (*Durio zibethinus Murr*)
MENGUNAKAN METODE ABTS DAN PENETAPAN KADAR
FLAVONOID TOTAL**

SKRIPSI



Oleh:

Siti Walidatur Rofiqoh

155010098

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
Maret 2020**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN EKSTRAK
ETANOL BIJI DURIAN (*Durio zibethinus Murr*)
MENGUNAKAN METODE ABTS DAN PENETAPAN KADAR
FLAVONOID TOTAL**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim**

Oleh :

Siti Walidatur Rofiqoh

155010098

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
Februari 2020**

INTISARI

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN EKSTRAK ETANOL BIJI DURIAN (*Durio zibethinus Murr*) MENGGUNAKAN METODE ABTS DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL

Radikal bebas yang berlebihan didalam tubuh dapat menimbulkan penyakit kanker, liver dan penuaan dini. Agar tubuh terhindar dari dampak negative radikal bebas maka tubuh membutuhkan asupan antioksidan. Biji durian (*Durio zibethinus Murr*) mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian (FHEEBD) menggunakan metode ABTS dan menetapkan kadar flavonoid total.

Biji durian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi, kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air secara bertingkat. FHEEBD yang dihasilkan diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode ABTS dan vitamin C sebagai pembanding dengan spektrofotometri *visible* pada panjang gelombang 744,60 nm dan *operating time* (OT) pada menit ke-30. Penetapan kadar flavonoid total dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi $AlCl_3$ dengan kuersetin sebagai pembanding menggunakan metode spektrofotometri UV kemudian dianalisis menggunakan persamaan regresi linier.

Hasil penelitian FHEEBD diperoleh nilai IC_{50} sebesar 78,86 ppm dan kadar flavonoid total sebesar 16,77 mg EQ/gram sampel yang menunjukkan bahwa FHEEBD memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan FHEEBD mengandung senyawa flavonoid.

Kata kunci : Biji durian (*Durio zibethinus Murr*), ABTS, Antioksidan, Flavonoid total.

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITIES FRACTION OF *n*-HEXANE EXTRACTS ETHANOL DURIAN SEEDS (*Durio zibethinus* Murr) USING THE ABTS METHOD AND LEVEL DETERMINATION TOTAL FLAVONOID

*Excessive free radicals in the body can cause cancer, liver and premature aging. In order for the body to avoid the negative effects of free radicals the body needs antioxidant intake. Durian seeds (*Durio zibethinus* Murr) contain flavonoid compounds which have antioxidant activity. This study aims to determine the antioxidant activity of the *n*-hexane fraction of ethanol extract of durian seeds (FHEEBD) using the ABTS method and determining total flavonoid levels.*

*Durian seeds were extracted using 70% ethanol solvent by maceration method, then fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate and water as a solvent. The resulting FHEEBD was tested for its antioxidant activity using the ABTS method and vitamin C as a comparison with visible spectrophotometry at a wavelength of 744.60 nm and operating time (OT) at the 30 minute. Determination of total flavonoid levels by the colorimetric method using AlCl₃ reagent with quercetin as a comparison using UV spectrophotometry method then analyzed using linear regression equations.*

The results of the FHEEBD research obtained IC₅₀ values of 78.86 ppm and total flavonoid levels of 16.77 mg EQ / gram of samples which showed that FHEEBD had strong antioxidant activity and FHEEBD contained flavonoid compounds.

*Keywords: Durian seeds (*Durio zibethinus* Murr), ABTS, Antioxidants, Total Flavonoids*

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN EKSTRAK
ETANOL BIJI DURIAN (*Durio zibethinus Murr*)
MENGUNAKAN METODE ABTS DAN PENETAPAN KADAR
FLAVONOID TOTAL**

Oleh:
Siti Walidatur Rofiqoh
155010098

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal : 07 Maret 2020**

Pembimbing,



(Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd)

Mengetahui:
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Dekan,



(apt. Agnes Budiarti, S.Farm., M.Sc.)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Siti Walidatur Rofiqoh

NIM : 155010098

Judul Skripsi : Aktivitas Antioksidan Fraksi *n*-Heksan Ekstrak Etanol Biji Durian
(*Durio zibethinus Murr*) Menggunakan Metode ABTS dan Penetapan
Kadar Flavonoid Total

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah skripsi saya dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 12 Februari 2020



Siti Walidatur Rofiqoh

“Sesungguhnya bersama kesukaran itu ada kemudahan. Karena itu bila kamu sudah selesai (mengerjakan yang lain). Dan berharaplah kepada Tuhanmu.
(Q.S Al-insyirah : 6-8)”

Kupersembahkan untuk :

Kedua orang tua sebagai wujud hormat dan baktiku

Almamater sebagai wujud terima kasih dan khidmahku

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Aktivitas Antioksidan Fraksi *n*-Heksan Ekstrak Etanol Biji Durian (*Durio zibethinus Murr*) Menggunakan Metode ABTS dan Penetapan Kadar Flavonoid Total” Sebagai syarat dalam mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Penulis menyadari kelemahan serta keterbatasan yang ada sehingga dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Aqnes Budiarti, M.Sc., Apt. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
2. Ibu Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian serta dengan sabar membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini.
3. Ibu Aqnes Budiarti, M.Sc., Apt. dan Ibu Maria Ulfah, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah bersedia menjadi dosen penguji dan memberikan saran serta kritik untuk membangun skripsi penulis.

4. Seluruh Staf Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Fitokimia Universitas Wahid Hasyim Semarang atas ilmu yang diberikan kepada penulis.
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan sebagai dasar penulisan skripsi ini.
6. Orang tuaku dan kakak - kakakku yang memberikan dukungan baik secara materil maupun nonmateril serta doa yang tiada henti hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini.
7. Teman – teman skripsi, sahabat – sahabat dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang turut membantu penulis hingga terselesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan baik isi maupun susunannya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi para pembaca.

Semarang, 12 Februari 2020



Siti Walidatur Rofiqoh

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
INTISARI	ii
<i>ABSTRACT</i>	iii
PENGESAHAN SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN	v
PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
E. Tinjauan Pustaka	4
1. Biji durian (<i>Durio zibethinus Murr</i>)	4
2. Flavonoid	5
3. Radikal bebas.....	7
4. Antioksidan	7
5. ABTS	8
6. Vitamin C	9
7. <i>Inhibitory concentration (IC₅₀)</i>	10

8. Kolorimetri	11
9. Kuersetin	11
F. Landasan Teori	12
G. Hipotesis	14
BAB II. METODE PENELITIAN	15
A. Bahan dan Alat Penelitian	15
1. Bahan penelitian	15
2. Alat penelitian	15
B. Jalannya Penelitian	16
1. Pengumpulan bahan	16
2. Determinasi tanaman	16
3. Pembuatan serbuk simplisia	16
4. Pembuatan ekstrak dan fraksinasi biji durian	17
5. Uji aktivitas antioksidan	21
6. Identifikasi senyawa flavonoid	23
7. Penetapan kadar flavonoid total	24
C. Analisis Data	25
BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
A. Determinasi Tanaman	26
B. Pengumpulan Bahan dan Penyiapan Simplisia	26
C. Ekstraksi Biji Durian	28
D. Fraksinasi Ekstrak Etanol Biji Durian	28
E. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi <i>n</i> -Heksan	29
1. Penentuan panjang gelombang maksimum	29
2. Penentuan <i>operating time</i> (OT)	30
3. Uji aktivitas antioksidan	31
F. Identifikasi Senyawa Flavonoid	37

G.	Penentuan Kadar Flavonoid Total	38
1.	Penentuan panjang gelombang maksimum	38
2.	Penentuan <i>operating time</i> (OT)	40
3.	Penentuan kurva baku kuersetin	41
4.	Penetapan kadar flavonoid total	42
BAB IV.	PENUTUP	45
A.	Kesimpulan	45
B.	Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

Tabel I. Klasifikasi daya antioksidan (Blois, 1958)	10
Tabel II. <i>Operating time</i> larutan ABTS dengan vitamin C	31
Tabel III. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan fraksi <i>n</i> -heksan ABTS	33
Tabel IV. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C	35
Tabel V. Hasil perbandingan IC ₅₀ fraksi <i>n</i> -heksan biji durian dan vitamin C	36
Tabel VI. Hasil <i>operating time</i> kuersetin dengan alumunium klorida	40
Tabel VII. Hasil penentuan kurva baku kuersetin	41
Tabel VIII. Hasil penetapan kadar flavonoid total	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Biji durian (Koleksi pribadi)	5
Gambar 2. Struktur dasar flavonoid (Markham, 1998)	6
Gambar 3. Mekanisme reaksi radikal bebas ABTS	8
Gambar 4. Struktur kimia vitamin C	9
Gambar 5. Reaksi penetapan kandungan flavonoid total dengan $AlCl_3$	11
Gambar 6. Struktur kuersetin	12
Gambar 7. Proses pembuatan ekstrak etanol biji durian	18
Gambar 8. Proses pembuatan fraksi <i>n</i> -heksan ekstrak etanol biji durian	20
Gambar 9. Panjang gelombang maksimum ABTS	30
Gambar 10. Peredaman radikal bebas ABTS oleh vitamin C	32
Gambar 11. Persamaan regresi linier aktivitas antioksidan fraksi <i>n</i> -heksan	34
Gambar 12. Persamaan regresi linier aktivitas antioksidan vitamin C	35
Gambar 13. Uji tabung flavonoid	38
Gambar 14. Reaksi antara flavonoid dengan logam HCl dan Mg	38
Gambar 15. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin	39
Gambar 16. Kurva baku kuersetin	42
Gambar 17. Reaksi penetapan kandungan flavonoid total dengan $AlCl_3$	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman biji durian	51
Lampiran 2. Perhitungan susut pengeringan dan randemen ekstrak	54
Lampiran 3. <i>Certificate of analysis</i> ABTS.....	55
Lampiran 4. Perhitungan larutan ABTS	56
Lampiran 5. Pembuatan larutan stok vitamin C	57
Lampiran 6. Pembuatan larutan induk fraksi <i>n</i> -heksan	59
Lampiran 7. Penentuan panjang gelombang maksimum ABTS	61
Lampiran 8. Penentuan <i>operating time</i> ABTS dan vitamin C	62
Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antioksidan	63
Lampiran 10. Data pengukuran aktivitas antioksidan	67
Lampiran 11. Hasil analisis regresi linier antioksidan	68
Lampiran 12. Pembuatan larutan stok dan pengenceran sampel	70
Lampiran 13. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin	71
Lampiran 14. Penentuan <i>operating time</i> kuersetin dan $AlCl_3$	72
Lampiran 15. Perhitungan seri konsentrasi kuersetin.....	73
Lampiran 16. Kurva baku kuersetin	75
Lampiran 17. Penentuan kadar flavonoid total fraksi <i>n</i> -heksan	78
Lampiran 18. Dokumentasi	80
Lampiran 19. Surat keterangan lab biologi	84
Lampiran 20. Surat keterangan lab kimia	85

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Radikal bebas merupakan salah satu senyawa oksigen reaktif yang tidak memiliki elektron berpasangan pada orbit luarnya. Adanya elektron tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya. Radikal bebas yang berlebihan didalam tubuh dapat menimbulkan penyakit kanker, liver dan penuaan dini. Agar tubuh terhindar dari dampak negatif oksidasi oleh radikal bebas, maka tubuh sangat membutuhkan asupan antioksidan (Musarofah, 2015).

Antioksidan merupakan senyawa yang jika ada dalam jumlah yang lebih sedikit mampu menghambat, menunda atau mencegah terjadinya oksidasi lemak atau senyawa – senyawa lain yang mudah teroksidasi. Didalam tubuh manusia sudah terdapat antioksidan, tetapi karena banyaknya radikal bebas yang masuk membuat antioksidan yang ada didalam tubuh tidak mampu memenuhi sehingga perlu sumber antioksidan dari luar (Santosa, 2017). Sumber antioksidan alami dapat diperoleh dari sayuran dan buah – buahan (Musarofah, 2015).

Biji durian dimasyarakat dibuang sebagai limbah, padahal biji durian memiliki senyawa yang bermanfaat bagi tubuh manusia diantaranya mengandung senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hasil penelitian dari aktivitas antioksidan dengan uji peredaman radikal DPPH ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) menunjukkan

adanya aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 23,10 $\mu\text{g/mL}$ dan vitamin C IC_{50} sebesar 3,76 $\mu\text{g/mL}$ (Amir dan Saleh, 2014).

Biji durian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan terhadap kadar piperin buah cabe jawa (*Piperis retrofracti fructus*) (Istiqomah, 2013). Senyawa flavonoid dapat disari oleh fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Pelarut *n*-heksan digunakan untuk menarik senyawa non polar, pelarut etil asetat digunakan untuk menarik senyawa semi polar, pelarut air-etanol digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat polar (Mutiasari, 2012). Aglikon merupakan jenis flavonoid yang terdapat didalam fraksi *n*-heksan dari rimpang tanaman pakun ekor tupai (*Drynaria quercifolia* Linn) (Muhammad dkk., 2017). Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dari ekstrak dan fraksi daun paitan menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} 3,874 ppm, sedangkan nilai untuk fraksi etil asetat, ekstrak etanol dan fraksi air berturut-turut adalah 3,992 ppm, 4,525 ppm dan 11,588 ppm (Hanifah, 2015).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode ABTS. Metode ABTS jika dibandingkan dengan DPPH memiliki keunggulan yaitu memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang *visible* (Karadag, 2009). Pengujian aktivitas antioksidan pada daun kelor menggunakan metode ABTS juga lebih baik daripada metode DPPH karena pada metode ABTS memiliki kesensitifan yang tinggi dimana nilai aktivitas antioksidan pada uji DPPH sebesar 85,4% dan 92,12% pada uji ABTS (Fitriana dkk., 2015)

Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol buah mengkudu dilakukan dengan metode kolorimetri AlCl_3 . Prinsip metode kolorimetri AlCl_3 adalah pembentukan kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning (Anwar dan Liling, 2016). Menurut hasil penelitian Hanifah, (2015) kandungan flavonoid total daun paitan fraksi *n*-heksan yang paling besar dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi air.

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) menggunakan metode ABTS dengan pembanding vitamin C sehingga diperoleh nilai IC_{50} dan penetapan kadar flavonoid total dengan pembanding kuersetin sehingga diperoleh nilai mg EQ/gram sampel.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perumusan masalahnya adalah :

1. Apakah fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) memiliki aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dan seberapa besar nilai IC_{50} ?
2. Apakah fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) mengandung senyawa flavonoid dan seberapa besar kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl_3 ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui adanya aktivitas antioksidan dan besarnya aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) menggunakan metode ABTS untuk menghitung nilai IC₅₀.
2. Mengetahui adanya senyawa flavonoid dan besarnya kadar flavonoid total dalam fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat yaitu :

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) yang memiliki aktivitas antioksidan alami.
2. Menambah ilmu pengetahuan tentang antioksidan dalam bidang kesehatan serta referensi bagi penelitian selanjutnya.

E. Tinjauan Pustaka

1. Biji durian (*Durio zibethinus Murr*)

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman durian menurut (Sobir dan Napitupulu, 2010) sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)

Divisi : *Spermatophyta* (tumbuhan berbiji)

Sub Divisi : *Angiospermae* (berbiji tertutup)
Kelas : *Angiospermae* (berbiji tertutup)
Ordo : *Malvaceae*
Famili : *Bombacaceae*
Genus : *Durio*
Spesies : *Durio zibethinus L*

b. Morfologi

Buah durian merupakan tanaman daerah tropis, karenanya dapat tumbuh baik di Indonesia. Panjang buah durian yang matang bisa mencapai 30-45 cm dengan lebar 20-25 cm, dan berat antara 1,5-2,5 kg. Setiap buah berisi 5 juring yang di dalamnya terletak 1-5 biji yang diselimuti daging buah yang berwarna putih, krem, kuning, atau kuning tua. Tiap varietas durian menentukan besar kecilnya ukuran buah, rasa, tekstur, dan ketebalan daging (Nazaruddin, 1994). Gambar biji durian (*Durio zibethinus Murr*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Biji durian (Koleksi pribadi)

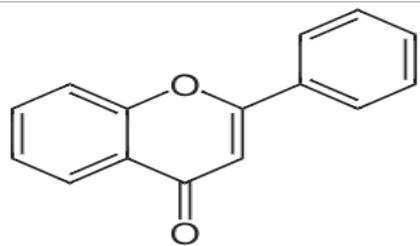
c. Kandungan senyawa

Biji buah durian memiliki kandungan kimia yang cukup banyak seperti protein, karbohidrat, lemak, kalsium, dan fosfor. Daun durian mengandung saponin, flavonoid dan steroid/triterpenoid. Bagian akarnya mengandung saponin dan tanin (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1994). Sementara buah durian mengandung flavonoid dan senyawa polifenol (Toledo, 2008).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988: 1)

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter, kloroform dan *n*-heksan (Markham, 1988). Kerangka dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur dasar flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar bunga, buah buni dan biji. Hanya sedikit catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada hewan, misalnya pada kelenjar bau berang-berang, ‘propolis’ (sekresi lebah), dan di dalam sayap kupu-kupu (Markham, 1988: 10).

3. Radikal bebas

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif karena elektron yang tidak memiliki pasangan. Radikal bebas mencari reaksi-reaksi agar dapat memperoleh elektron pasangannya. Serangkaian reaksi akan terjadi dan menghasilkan radikal bebas lain. Setelah itu, radikal bebas dapat mengalami tubrukan kaya energi dengan molekul lain, yang dapat merusak membran sel, retikulum endoplasma, atau DNA sel yang rentan. Kesalahan DNA akibat kerusakan radikal bebas diduga berkontribusi terhadap perkembangan beberapa jenis kanker (Corwin & Elizabeth, 2009).

Reaktivitas radikal bebas adalah mencari pasangan elektron. Akibatnya, akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya. Namun, bila dua senyawa radikal bertemu, elektron-elektron yang tidak berpasangan dari

kedua senyawa tersebut akan bergabung dan membentuk ikatan kovalen yang stabil. Sebaliknya, bila senyawa radikal bebas bertemu dengan senyawa bukan radikal bebas, akan terjadi 3 kemungkinan. Pertama, radikal bebas akan memberikan elektron yang tidak berpasangan (reduktor) kepada senyawa bukan radikal bebas, kedua, radikal bebas menerima elektron (oksidator) dari senyawa bukan radikal bebas, ketiga, radikal bebas akan bergabung dengan senyawa bukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

4. Antioksidan

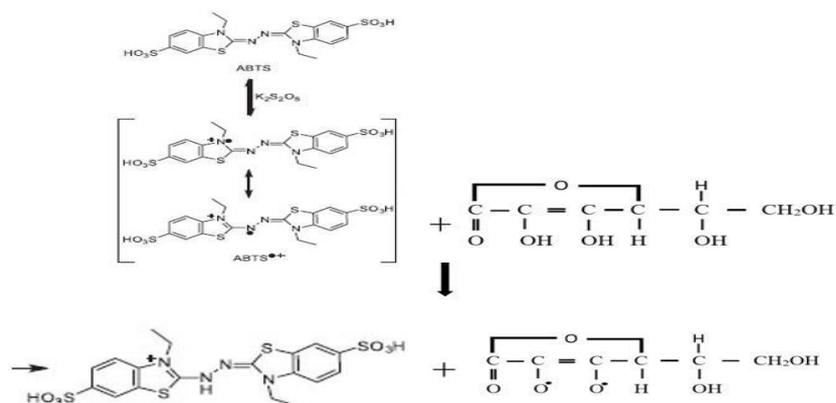
Antioksidan merupakan bahan atau senyawa yang menghambat atau mencegah keruntuhan, kerusakan, atau kehancuran akibat oksidasi (Youngson, 2005). Senyawa ini menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal. Akibatnya kerusakan sel dapat dihambat, didalam tubuh manusia sudah terdapat antioksidan akan tetapi karena banyaknya radikal bebas yang masuk membuat antioksidan yang ada didalam tubuh tidak mampu memenuhi sehingga perlu sumber antioksidan dari luar (Winarsi, 2007).

Antioksidan dapat diperoleh baik secara alami maupun sintesis. Antioksidan secara alami dapat diperoleh dari sayuran dan buah-buahan, sedangkan antioksidan sintesis seperti BHA, BHT, dan PG yang sebenarnya mempunyai efektivitas yang tinggi, namun penggunaannya menyebabkan toksisitas bagi tubuh manusia. Oleh karena itu, perlu dicari sumber antioksidan alami yang lebih aman daripada antioksidan sintesis untuk dikembangkan misalnya antioksidan yang berasal dari tanaman yang kaya akan flavonoid, dan tokoferol (Tavasalkar dkk., 2012).

5. ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)

ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) merupakan senyawa radikal yang mengandung atom nitrogen. Prinsip pengujian adalah penyetabilan radikal bebas melalui donor proton. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan penghilangan warna ABTS yang semula berwarna biru hijau akan berubah menjadi tidak berwarna apabila tereduksi oleh radikal bebas. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan spektrofotometri *visible* pada panjang gelombang 734 nm. Hasil yang didapat dibandingkan dengan larutan standar Trolox yang merupakan antioksidan analog tokoferol (Yu, 2008).

Suatu radikal ABTS dapat diproduksi dengan cara oksidasi kalium persulfat sebelum penambahan antioksidan. ABTS merupakan radikal dengan pusat nitrogen dengan karakteristik warna biru-hijau ketika tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk non radikal yang tidak berwarna (Shalaby, 2013). Mekanisme reaksi radikal bebas ABTS dapat dilihat pada Gambar 3.



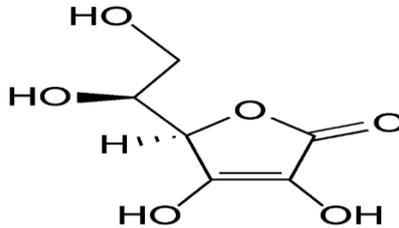
Gambar 3. Mekanisme reaksi radikal bebas ABTS

Metode ABTS jika dibandingkan dengan DPPH memiliki keunggulan yaitu memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang *visible*. Selain itu, ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga bisa mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik (Karadag, 2009).

6. Vitamin C

Vitamin C adalah vitamin yang tergolong vitamin yang larut dalam air. Sumber Vitamin C sebagian besar tergolong dari sayur-sayuran dan buah-buahan terutama buah-buahan segar. Asupan gizi rata-rata sehari sekitar 30 sampai 100 mg vitamin C yang dianjurkan untuk orang dewasa. Namun, terdapat variasi kebutuhan dalam individu yang berbeda (Sastrohamidjojo, 2005).

Asam askorbat (vitamin C) adalah turunan heksosa dan diklasifikasikan sebagai karbohidrat yang erat kaitannya dengan monosakarida. Vitamin C dapat disintesis dari *D-glukosa* dan *D-galaktosa* dalam tumbuh-tumbuhan dan sebagian besar hewan. Vitamin C terdapat dalam dua bentuk di alam, yaitu *L-asam askorbat* (bentuk tereduksi) dan *L-asam dehidro askorbat* (bentuk teroksidasi). Oksidasi bolak-balik *L-asam askorbat* menjadi *L-asam dehidro askorbat* terjadi apabila bersentuhan dengan tembaga, panas, atau alkali (Akhilender, 2003). Vitamin C yang berperan sebagai antioksidan akan mendonorkan elektron kepada radikal bebas sehingga vitamin C akan teroksidasi menjadi *semidehydroascorbut acid* yang relatif stabil (Muhammad, 2009). Struktur kimia vitamin C dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia vitamin C

Fungsi vitamin C dalam kehidupan sehari-hari berperan dalam penyembuhan luka, patah tulang, perdarahan di bawah kulit dan perdarahan gusi. Asam askorbat penting untuk mengaktifkan enzim *prolil hidroksilase*, yang menunjang tahap hidroksilasi dalam pembentukan hidroksipolin, suatu unsure integral kolagen. Tanpa asam askorbat, maka serabut kolagen yang terbentuk di semua jaringan tubuh menjadi cacat dan lemah. Oleh sebab itu, vitamin ini penting untuk pertumbuhan dan kekurangan serabut di jaringan subkutan, kartilago, tulang, dan gigi (Guyton, 2007).

7. Inhibitory Concentration (IC₅₀)

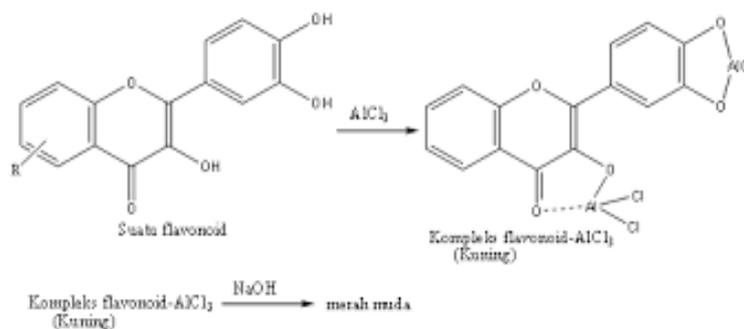
Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian ABTS adalah IC₅₀ (*inhibitory concentration*) merupakan konsentrasi larutan substrat yang menyebabkan hilangnya aktivitas ABTS sebesar 50% (Molyneux, 2004). Nilai IC₅₀ dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu X dan % inhibisi dengan sumbu Y, sehingga diperoleh persamaan $Y = bx + a$. Harga IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat antioksidan. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas suatu antioksidan (Molyneux, 2004). Klasifikasi daya antioksidan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi daya antioksidan (Blois, 1958)

Klasifikasi Daya Antioksidan	Nilai IC ₅₀
Sangat Kuat	IC ₅₀ < 50 ppm
Kuat	50 ppm > IC ₅₀ < 100 ppm
Sedang	100 ppm > IC ₅₀ < 150 ppm
Lemah	150 ppm > IC ₅₀ < 200 ppm
Sangat Lemah	IC ₅₀ > 200 ppm

8. Kolorimetri

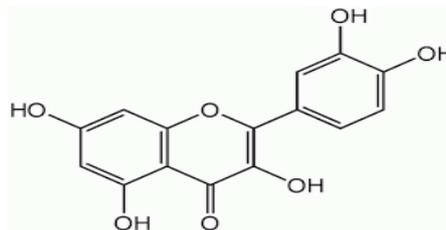
Metode kolorimetri dapat digunakan untuk penetapan kadar flavonoid yaitu dengan menggunakan pereaksi AlCl₃ yang mempunyai prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah flavonoid golongan flavon dan flavonol. Prinsip penetapan flavonoid dengan metode kolorimetri AlCl₃ adalah terbentuknya kompleks antara AlCl₃ dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol yang membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning (Mursyidi, 1990). Reaksi penetapan kandungan flavonoid total dengan AlCl₃ dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi penetapan kandungan flavonoid total dengan AlCl₃

9. Kuersetin

Kuersetin (3,4-dihidroksiflavanol) merupakan senyawa flavonoid dari kelompok flavonol dan terdapat terutama pada tanaman teh, tomat, apel, kakao, anggur dan bawang yang memiliki sifat antioksidan yang sangat potensial. Dengan mengkonsumsi kuersetin dalam jumlah yang cukup (50-200 mg per hari) maka dapat bermanfaat memberi perlindungan karena berperan sebagai senjata pemusnah radikal bebas sehingga dapat mencegah penuaan dini. Kuersetin menunjukkan aktivitasnya dalam menghambat reaksi oksidasi *low-density lipoprotein* (LDL) secara *in vitro* (Kosasih, 2004), mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel dengan mekanisme menangkap radikal oksigen, memberi efek farmakologi sebagai antiinflamasi (Herowaty, 2008). Struktur kuersetin dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur kuersetin

F. Landasan Teori

Radikal bebas dapat berasal dari asap rokok, polusi, sinar uv dan makanan cepat saji, sehingga dapat menimbulkan penyakit kanker, liver dan penuaan dini. Agar tubuh terhindar dari radikal bebas maka tubuh membutuhkan asupan antioksidan. Uji fitokimia biji durian (*Durio zibethinus Murr*) memiliki kandungan alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid yang mempunyai aktivitas sebagai

antioksidan. Aktivitas antioksidan dengan uji peredaman radikal DPPH IC₅₀ dari ekstrak biji durian (*Durio zibethinus Murr*) adalah sebesar 23,10 µg/mL dan vitamin C IC₅₀ sebesar 3,76 µg/mL (Amir dan Saleh, 2014).

Perbandingan pengaruh metode ekstraksi kulit buah durian berpengaruh terhadap jumlah senyawa antioksidan yang terekstrak sehingga berpengaruh juga terhadap aktivitas antioksidannya (Setyowati dan Dhika, 2014). Metode ekstraksi secara maserasi menghasilkan kadar flavonoid total lebih tinggi dibandingkan infundasi, dengan rerata kadar flavonoid total dalam EM (ekstrak maserat) sebesar 5,32 %b/b ER (Fardhani, 2014).

Metode ABTS mempunyai kelebihan dibandingkan metode lain yaitu pengujian sederhana, mudah diulang, fleksibel, dan dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bersifat *hidrofilik* maupun *lipofilik* (Guclu dkk., 2006). Pengujian aktivitas antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari fraksi - fraksi daun kelor (*Moringa oleifera*) dilakukan karena metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi dari pada DPPH dimana nilai aktivitas antioksidan sebesar 85,4% pada uji DPPH dan 92,12% pada uji ABTS (Fitriana dkk., 2015).

Kandungan flavonoid total ekstrak daun paitan secara berurutan dari yang paling besar adalah fraksi *n*-heksan 8,201 mg QE/gram ekstrak, fraksi etil asetat 5,224 mg EQ/gram ekstrak, dan fraksi air 1,163 mg QE/gram ekstrak. Fraksi *n*-heksan diperoleh kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi air (Hanifah, 2015). Sedangkan kadar flavonoid golongan flavon dan

flavonol pada ekstrak metanol kulit buah kakao yang ditunjukkan dengan metode aluminium klorida adalah sebesar $0,2371 \pm 0,0004$ % (Azizah dkk., 2014).

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori, hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) mempunyai aktivitas antioksidan.
2. Fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanol biji durian (*Durio zibethinus Murr*) mengandung senyawa flavonoid.

BAB II METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji durian (*Durio zibethinus Murr*) segar yang diperoleh dari Kebun Durian Watu Simbar, Gunung Pati, Semarang, Jawa Tengah, etanol 70% (MERCK), etanol p.a. (MERCK), *n*-heksan (MERCK), etil asetat (MERCK), aquadest, ABTS (*2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid*), kalium persulfat ($K_2S_2O_8$), vitamin C, standar Quersetin (Sigma), pereaksi $AlCl_3$ 10% (MERCK), pereaksi kalium asetat 1 M 10 % (MERCK), serbuk magnesium, HCl pekat.

2. Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan elektrik (Ohaus), drying, blender (maspion), moisture balance (Ohaus), gelas beker, gelas ukur, toples, batang pengaduk, wadah ekstrak, kertas saring, corong buchner, klem dan statif, rotary evaporator (Heidolph), oven (Memmert), corong pisah, pipet volume, pipet tetes, micropipette (Socorex), tabung reaksi, rak tabung reaksi, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu).

B. Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan bahan

Biji durian matang diperoleh dari kebun durian Watu Simbar, Kecamatan Gunung Pati, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Bagian yang digunakan adalah biji buah durian yang masih segar.

2. Determinasi tanaman

Determinasi dilakukan untuk mengetahui identitas tumbuhan yang digunakan pada penelitian, yaitu tumbuhan durian. Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro Semarang. Caranya dengan menggunakan pustaka dari Backer, CA, RCB Van Den Brink dan Van Steenis.

3. Pembuatan serbuk simplisia

Biji durian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang menempel, kemudian disortir basah untuk memisahkan bagian lain yang tidak digunakan dalam penelitian. Biji durian ditimbang untuk mengetahui beratnya, kemudian dipotong-potong dan dikeringkan. Proses pengeringan dengan oven suhu 50-70°C sampai kering dengan ciri – ciri biji durian mudah hancur bila diremas dengan tangan. Simplisia kering yang didapat kemudian disortasi kering untuk memastikan ada tidaknya pengotor yang tidak diinginkan atau memisahkan bagian simplisia yang rusak atau gosong akibat pengeringan. Simplisia kering ditimbang dan dibuat serbuk dengan cara diblender, kemudian diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh untuk mendapatkan derajat halus yang sama serta diukur kadar airnya dengan *moisture balance* hingga kadar airnya tidak lebih dari 10% (Depkes, 1979). Serbuk biji buah durian kemudian ditimbang untuk menghitung hasil susut pengeringan dan simplisia kering dapat disimpan ditempat yang terhindar dari sinar matahari.

4. Pembuatan ekstrak dan fraksinasi biji durian

Serbuk simplisia biji durian sebanyak 600 gram diekstraksi dengan cara maserasi. Serbuk simplisia dimasukkan kedalam wadah kaca atau toples yang bersih dan steril, kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 4500 mL sebagai cairan penyari. Wadah kaca atau toples ditutup rapat dan diletakkan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari. Campuran tersebut didiamkan selama 2 hari dengan pengadukan minimal 2 kali sehari, campuran etanol 70% dan serbuk biji durian disaring. Hasil dari penyaringan ini disebut maserat I. Ampas dari hasil penyaringan tersebut diremaserasi dengan etanol 70% sebanyak 1500 mL dan diletakkan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari. Campuran didiamkan selama 1 hari dengan pengadukan minimal 2 kali sehari, kemudian campuran tersebut disaring. Hasil dari penyaringan kedua ini disebut maserat II.

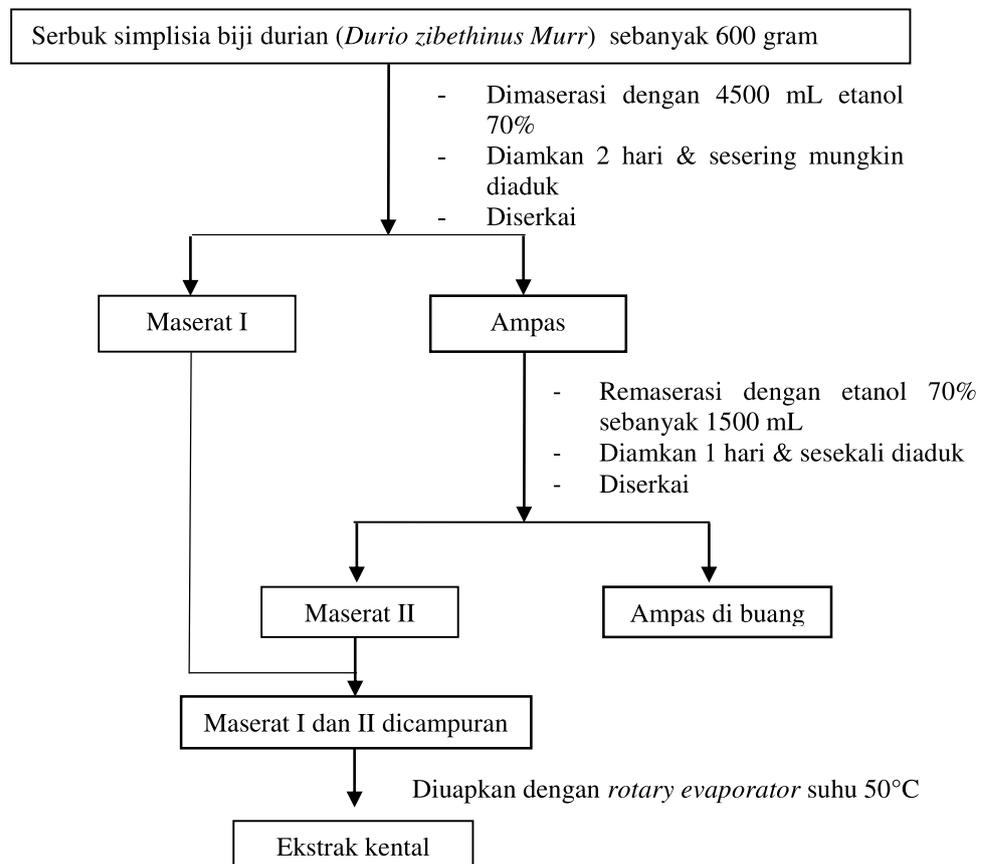
Maserat I dan II dicampur, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Setelah diperoleh ekstrak kental kemudian disimpan dalam wadah kaca yang tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. Perhitungan rendemen ekstrak etanol dari simplisia biji durian dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak yang Diperoleh}}{\text{Berat Serbuk Simplisia}} \times 100\%$$

Ekstrak kental yang didapat kemudian difraksinasi menggunakan pelarut dengan berbagai tingkat kepolarannya. Proses fraksinasi bertingkat yang digunakan adalah partisi cair – cair menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Partisi cair – cair dimulai dari pelarut dengan tingkat kepolaran rendah yaitu *n*-heksana, etil asetat dan air. Fraksinasi dimulai dengan melarutkan ekstrak etanol biji durian

kedalam aquadest hingga seluruh ekstrak larut sempurna, kemudian ditambah campuran air dan etanol 70% dengan perbandingan 9:1 (90 mL air : 10 mL etanol 70%). Selanjutnya difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebanyak 100 mL, digojog dengan kuat kemudian didiamkan sampai terbentuk dua lapisan kemudian dipisahkan. Proses tersebut dilakukan sampai fraksi *n*-heksana jernih.

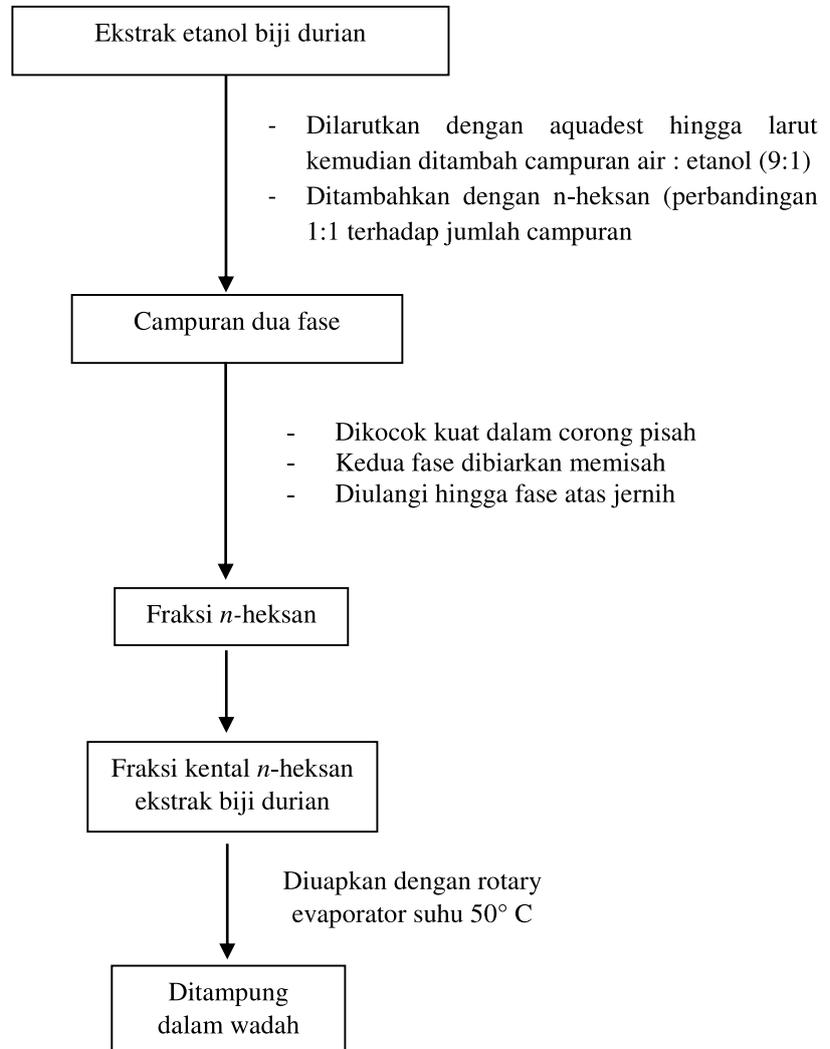
Proses pembuatan ekstrak etanol biji durian dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Proses pembuatan ekstrak etanol biji durian

Proses pembuatan fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian dapat dilihat pada

Gambar 8.



Gambar 8. Proses pembuatan fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian

5. Uji aktivitas antioksidan

a. Pembuatan larutan stok ABTS

Pembuatan larutan blanko ABTS, dilakukan dengan cara serbuk ABTS ditimbang sebanyak 100,0 mg dilarutkan dengan aquadest sebanyak 25 mL (7mM) dan dibuat larutan $K_2S_2O_8$ sebanyak 165,56 mg ditambahkan aquadest sebanyak 25 mL (2,45 mM). Kedua larutan tersebut dicampur kemudian dibungkus dengan aluminium foil supaya terhindar dari cahaya matahari, selanjutnya diinkubasi selama 6 jam hingga tercampur rata supaya reaksi yang terjadi dapat sempurna (Lee dkk., 2006).

b. Pembuatan larutan stok vitamin C murni

Larutan baku dibuat dengan cara menimbang vitamin C secara seksama 100,0 mg pada neraca analitik. Vitamin C kemudian dilarutkan dengan etanol absolut sampai 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, kemudian dipipet 1000 μ L lalu ditambahkan etanol absolut sampai tanda batas dalam labu takar 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan stok tersebut dibuat seri konsentrasi 2 ; 4 ; 6 ; 8 dan 10 μ g/mL (Sami dan Rahimah, 2015).

c. Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum

Penentuan λ maksimum dilakukan dengan cara 1 mL larutan ABTS diukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan rentang panjang gelombang 680 – 800 nm. Larutan blanko yang digunakan adalah etanol absolut. Berdasarkan Shanmugapriya dkk., (2011), panjang gelombang maksimum yang diperoleh untuk ABTS adalah 745 nm.

d. Penentuan *operating time*

Pembuatan *operating time* dilakukan dengan cara diambil larutan ABTS 1 mL kemudian ditambah 1 mL larutan vitamin C. Larutan dihomogenkan dengan divortex selama 30 detik dan diukur absorbansinya pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 pada λ maksimum. Waktu peredaman radikal bebas ABTS yang menghasilkan absorbansi paling stabil dan memberikan serapan yang tinggi menunjukkan sampel sudah bereaksi dengan sempurna (Sami dan Rahimah, 2015).

e. Pembuatan seri konsentrasi fraksi *n*-heksan

Pembuatan seri konsentrasi fraksi *n*-heksana dengan cara menimbang 100,0 mg fraksi *n*-heksana ekstrak etanol biji buah durian kemudian dilarutkan dengan etanol absolut 100 mL dalam labu takar sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya dipipet 1000 μ L dan ditambah etanol absolut sampai tanda batas dalam labu takar 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan stok tersebut dibuat seri konsentrasi 10 ; 20 ; 30 ; 40 dan 50 ppm (Sami dan Rahimah, 2015).

f. Uji aktivitas antioksidan metode ABTS

1) Uji aktivitas antioksidan vitamin C

Larutan ABTS sebanyak 1 mL dimasukkan tabung reaksi kemudian ditambah 1 mL larutan pembanding vitamin C sesuai seri kadar yang sudah dibuat. Campuran divortex selama 30 detik dan didiamkan ditempat gelap selama *operating time*. Selanjutnya dibaca serapan ABTS terhadap baku pembanding vitamin C pada panjang gelombang

maksimal, kemudian dihitung daya antioksidan baku vitamin C.

Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Daya Antioksidan} = \left(\frac{\text{Abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \right) \times 100 \%$$

(Sami dan Rahimah, 2015)

2) Uji aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian

Larutan ABTS sebanyak 1 mL dimasukkan tabung reaksi dan ditambah 1 mL fraksi *n*-heksana ekstrak etanol biji buah durian sesuai seri kadar yang sudah dibuat, kemudian divortex selama 30 detik dan didiamkan ditempat gelap selama *operating time*. Selanjutnya dibaca serapan ABTS terhadap fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian pada panjang gelombang maksimal metode ABTS. Dihitung daya antioksidannya terhadap radikal bebas ABTS (Sami dan Rahimah, 2015).

6. Identifikasi senyawa flavonoid

Lima tetes fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 2 mg serbuk Mg, 3 tetes HCl pekat dan 5 tetes etanol kemudian digojog. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

7. Penetapan kadar flavonoid total

a. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ) kuersetin

Panjang gelombang maksimum (λ) ditentukan dengan cara membuat kuersetin 60 ppm kemudian sebanyak 1 mL larutan kuersetin 60 ppm

tersebut direaksikan dengan 200 μL AlCl_3 10% dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 200 μL Kalium Asetat 1M 10% dalam larutan dan dilakukan pembacaan pada rentang panjang gelombang 400 – 500 (Ipandi dkk., 2016).

b. Penentuan *operating time* kuersetin

Penentuan *operating time* dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL larutan kuersetin 60 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 200 μL AlCl_3 10% dan ditambah 200 μL kalium asetat 1M 10%. Larutan diukur absorbansinya pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 dan 60 pada λ maksimum sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

c. Penentuan kurva baku kuersetin

Larutan baku dibuat dengan cara menimbang kuersetin secara seksama 100,0 mg pada neraca analitik, kemudian kuersetin dilarutkan dengan etanol absolut ad 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dipipet 1000 μL dan ditambah etanol absolut sampai tanda batas dalam labu takar 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan baku 100 ppm kuersetin kemudian dibuat variasi konsentrasi 15 ; 30 ; 45 ; 60 ; 75 dan 90 ppm.

d. Penetapan kadar flavonoid total

Satu mL larutan sampel fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian direaksikan dengan 200 μL AlCl_3 10% dan ditambah 200 μL kalium asetat 1M 10% kedalam larutan dan didiamkan selama 30 menit. Kurva

standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin ($\mu\text{g/mL}$) dengan absorbansi (Pratiwi dkk., 2010).

C. Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang dikumpulkan berupa persentase aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total. Penentuan aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian dilakukan dengan perhitungan IC_{50} yang ditentukan dengan nilai konsentrasi sampel (ekstrak maupun vitamin C) dan persen aktivitas antioksidan, kemudian diplotkan pada masing – masing sumbu x sebagai konsentrasi dan y sebagai absorbansi sehingga analisisnya menggunakan regresi linier yaitu $y = bx + a$ digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing – masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} . Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan memasukkan nilai absorbansi dari sampel fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian kedalam analisis menggunakan regresi linier persamaan kurva baku kuersetin yaitu $y = bx + a$.

HALAMAN INI TIDAK TERSEDIA

BAB III

DAPAT DIAKSES MELALUI

UPT PERPUSTAKAAN UNWAHAS

BAB IV PENUTUP

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan :

1. Fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian memiliki aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dengan kategori kuat karena nilai IC₅₀ sebesar 78,86 ppm.
2. Fraksi *n*-heksan ekstrak etanol biji durian mengandung senyawa flavonoid dan memiliki kadar flavonoid total sebesar 16,77 mg EQ/gram sampel.

B. Saran

Saran dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian selanjutnya dilakukan perbandingan hasil aktivitas antioksidan dengan 2 metode yaitu ABTS dan FRAP pada sampel yang sama.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang senyawa selain flavonoid yang terdapat didalam biji durian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A.R., Juwita., Ratulangi, S.A.D., dan Malik, A., 2015, Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.SM), *Pharmacy Science Research*, 2 (1), 1-10.
- Akhilender, 2003, *Dasar-Dasar Biokimia I*, Erlangga, Jakarta.
- Amir, F., dan Saleh, C., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Buah Durian (*Durio zibethinus Murr*) dengan Menggunakan Metode DPPH, *Jurnal Kimia Mulawarman*, Vol. 11, No. 2.
- Anwar, K., dan Liling T., 2016, Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*), *Jurnal Pharmascience*, Vol. 3, No. 1.
- Azizah, D.N., Endang, K., dan Fahrauk, F., 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*), *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 2, No. 2, hal 45-49.
- Beda, T.O., 2018, Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides [L] Presl*) dengan Metode Kolorimetri $AlCl_3$, *Karya Tulis Ilmiah*, Politeknik Kesehatan Kemenkes, Kupang.
- Blois, M.S., 1958, *Antioxidant Determinations by The Use of a Stable Free Radical*, *Nature*, 181 : 1199-1200.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wem, H.M., dan Chern, J.C., 2002, Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complimentary Colorimetric Methods". *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 1181.
- Corwin, dan Elizabeth, J., 2009, *Buku Saku Patofisiologi, Ed. 3*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979, *Farmakope Indonesi*. Edisi ketiga, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 2-25.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sediaan Galenik, 2&10*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

- Fardah, U, J., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Air Perasan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6sulfonic acid) Dan Pentapan Kadar Flavonoidnya. *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Fardhani, H.L., 2014, Pengaruh Metode Ekstraksi secara Infundasi dan Maserasi Daun Salam Jawa (*Tamarindus indica L.*) terhadap Kadar Flavonoid Total, *Skripsi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Fitriana, W.D., Sri, F., dan Taslim, E., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*), *SNIPS 2015*, Bandung.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2008, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 253-254, 353-360.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2016, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 220-268.
- Guclu, K., Altun, M., Ozyurek, M., Karademir, S.E., dan Apak, R., 2006, Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulfited-dried Malatya apricot (*Prunus Armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and Folin Methods. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **41**, 76-85.
- Gunawan, D., dan Mulyani, S., 2004, *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*, Jilid I, Cetakan I, Penebar Swadaya, Jakarta, 12-13.
- Guyton, A.C., 2007, *Biokimia untuk Pertanian*, USU-Press, Medan.
- Hanifah, R.A., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan serta Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak dan Fraksi Daun Paitan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray), *Skripsi*, Universitas Islam Bandung, Bandung.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro*, Penerbit ITB, Bandung, 10-14, 21- 31,71-72,74.
- Herowaty, R., Rahman, E.K., Ketut, I.K., Nuraini, H., dan Tutus, G.K., 2008, Aktivitas Antiinflamasi Kuersetin-3-monoasetat, Hasil Asetilasi Selektif Kuersetin, *Artocarpus*, 8(2) : 60-67.
- Ipandi, I., Liling, T., dan Budi, P., 2016, Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd), *Jurnal Pharmascience*, Vol. 3, No. 1.

- Istiqomah, 2013, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*), *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Karadag, A., Ozcelik, B., Saner, S., 2009, Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities, *Food Analytical Methods*, Vol 2 (1), 41- 60.
- Kosasih, E.N., Setiabudhi, T., dan Heryanto, H., 2004, *Peranan Antioksidan pada Lanjut Usia*, Jakarta : Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia, Hal. 56-57, 65-66.
- Lee, B.W., Lee, J.H., Gal, S.W., Moon, Y.H., dan Park, K.H., 2006, Selective ABTS Radical-Scavenging Activity of Prenylated Flavonoids From *Cudrania Tricuspidata*, *Biochem. 2*, 427-432.
- Manik, D.F., dan Hertiani, T., 2014, Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Khazanah*, 6 (2), 1-11.
- Mariana L., Andayani Y., dan Gunawan R., 2013, Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*), *Chem. Prog.*, 6 (2), 50–55.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, terjemahan K.Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 1,10.
- Molyneux, P., 2004, *The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 26, 211–219.
- Muhammad, I., 2009, Efek Antioksidan Vitamin C Terhadap Tikus (*Rattus norvegicus L*) Jantan Akibat Pemaparan Asap Rokok, *Tesis*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Muhammad, M., Side, S., dan Sulastri, T., 2017, Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksan dari Rimpang Tanaman Paku Ekor Tupai (*Drynaria querafolia Linn*), *Skripsi*, Universitas Negeri Makassar, Makassar.
- Mursyidi, A., 1990, *Analisis Metabolit Sekunder*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 175-180.
- Musarofah, 2015, *Tumbuhan Antioksidan*, Bandung : PT Remaja Rosdakarya.

- Mutiasari, I.R., 2012, Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Aktif, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Nazaruddin. 1994. *Budidaya dan Pengaturan Panen Sayuran Dataran Rendah*. Penebar Swadaya. Jakarta. 142 hal.
- Nurjanah, A., Abdulla, dan Apriand, A., 2011, Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif pada Keong Ipong – Ipong (*Fasciolaria salmon*), *J.Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, XIV, 22-29).
- Pambudi, A., Syaifudin, Noriko, N., Swandari, R., dan Azura P.R., 2014, Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*), *Journal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 2 181.
- Pratiwi, P., Suzery, M., dan Cahyono, B., 2010, Total Fenolat dan Flavonoid dari Ekstrak Daun & Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus B.*) Jawa Tengah serta Aktivitas Antioksidannya, *Jurnal Sains dan Matematika*.
- Sami, F.J., dan Sitti R., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea L. var. Italica*) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-ethylbenzotiazolin)-6-asam sulfonat), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 2, No.2.
- Santoso, U., 2017, *Antioksidan Pangan*, Yogyakarta : UGM Press.
- Sarker, S.D., Latif, Z., dan Gray, A.I., 2006, *Natural Products Isolation, second edition*, 368, United States of America, Humana Press.
- Sastrohamidjojo, H., 2005, *Kimia Dasar*, Yogyakarta : UGM Press.
- Septiyaningsih, D., 2010, *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*, Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret.
- Setyowati, W.A.E., dan Dhika R.Z., 2014, Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus Murr*) Varietas Petruk, *Skripsi*, Univesitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Shalaby, E.A., dan Shanab, S.M.M, 2013, Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action, *AJPP*, 535-537.
- Shanmugapriya, K., Saravana, P.S., Payal, H., Mohammed, P., dan Binnie, W., 2011, Antioxidant Activity, Total Phenolic And Flavonoid Contents Of

Artocarpus Heterophyllus And Manilkara Zapota Seeds And Its Reduction Potential, *International Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 2.

Sobir, dan Napitupulu, R.M., 2010, *Bertanam Durian Unggul*, Jakarta : Penebar Swadaya.

Syamsuhidayat, S., dan Hutapea, J.R., 1994, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI*, Jakarta, 17-18.

Tavasalkar, S.U., Mishra, H.N., dan Madhavan, S., 2012, *Evaluation of Antioxidant Efficacy of Natural Plant Extracts against Synthetic Antioxidants in Sunflower Oil*, Open Access Scientific Reports, 1, 504.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., dan Kaur, H., 2011, *Phytochemical Screening and Extraction: A Review*, *Journal Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol. 1, 103-104.

Toledo, F., Patricia, A.A., Yong, S.P., 2008, *Screening of The Antioxidant and Nutritional properties, phenolic contents and proteins of five durian cultivars*, *International Journal of Food Sciences and Nutrition, Department of Medicinal Chemistry and Natural Products, School of Pharmacy, The Hebrew University, Jerusalem, Israel*, 415-427.

Voigt, R., 1994, *Buku Pelajar Teknologi Farmasi edisi 5*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 170.

Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Yogyakarta : Kanisus.

Youngson, R., 2005, *Antioksidan : Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*, 18, diterjemahkan oleh Susi Purwoko, Penerbit Arcan, Jakarta.

Yu, L., 2008, *Wheat Antioxidant*, USA : Wiley and Sons.