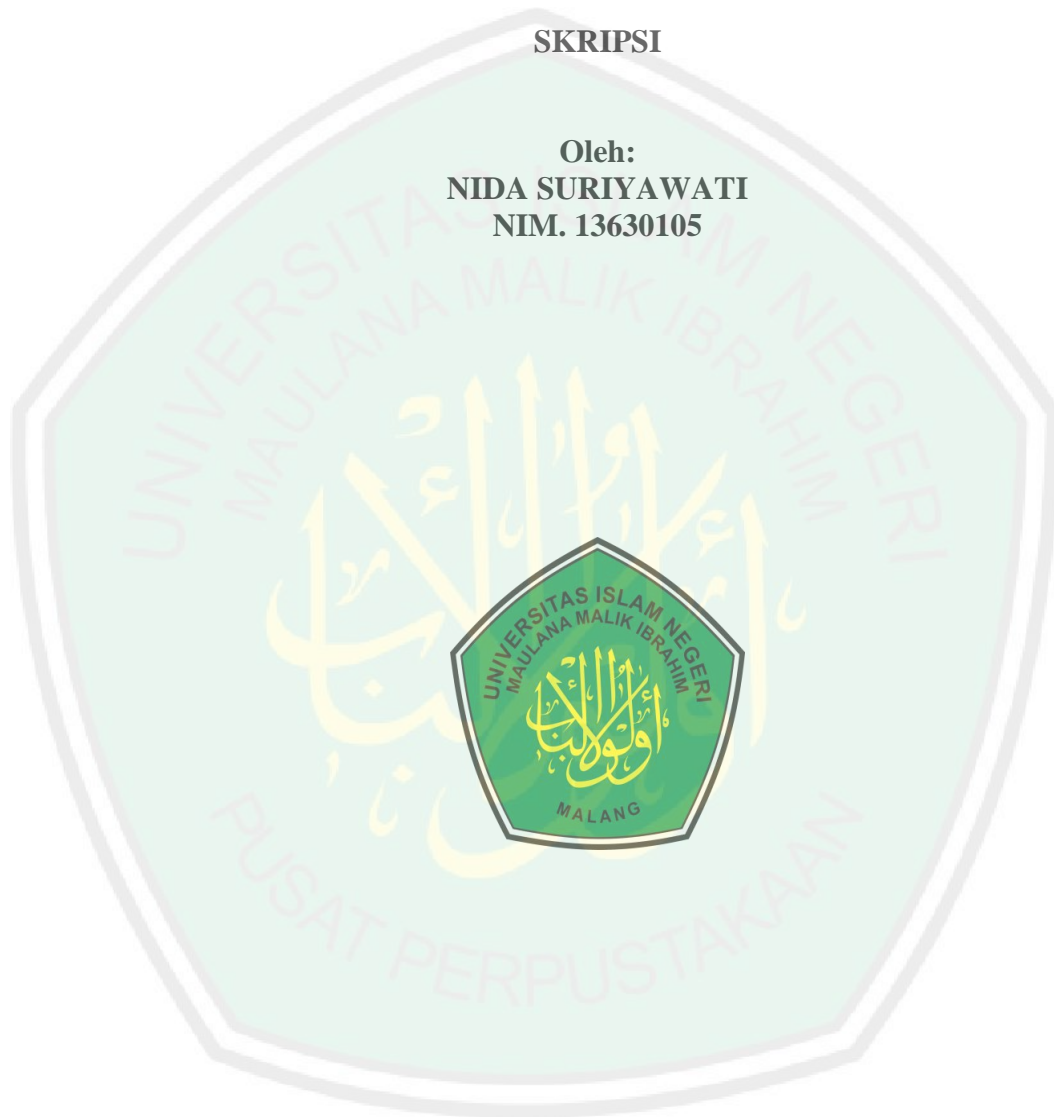


**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% KOMBINASI
KUNYIT PUTIH (*Curcuma Zedoaria Rosc.*) DAN BUAH PARE (*Momordica
Charantia L.*) MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-
PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:
NIDA SURIYAWATI
NIM. 13630105



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% KOMBINASI
KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria* Rosc.) DAN BUAH PARE (*Momordica
charantia* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-
PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:
NIDA SURIYAWATI
NIM. 13630105

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2018

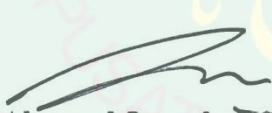
**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96%
KOMBINASI KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria* Rosc.) DAN BUAH
PARE (*Momordica charantia* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1-
DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:
NIDA SURIYAWATI
NIM. 13630105

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 06 Juni 2018

Pembimbing I



Hj. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II


Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069



Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96%
KOMBINASI KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria* Rosc.) DAN BUAH
PARE (*Momordica charantia* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1-
DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**

SKRIPSI

Oleh:
NIDA SURIYAWATI
NIM. 13630105

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 06 Juni 2018

Penguji Utama	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	()
Ketua Penguji	: Hafidatul Hasanah, M.Si LB. 64108	()
Sekretaris Penguji	: Hj. Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	()
Anggota Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	()



Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia


Etik Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nida Suriyawati
NIM : 13630105
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria Rosc.*) Dan Buah Pare (*Momordica charantia L.*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atau perbuatan tersebut.

Malang, 30 Juni 2018
Yang membuat pernyataan,



Nida Suriyawati
NIM. 13630105

MOTTO

وَلَا تَقْفُ مَا لَيْسَ لَكَ بِهِ عِلْمٌ إِنَّ السَّمْعَ وَالْبَصَرَ وَالْفُؤَادَ كُلُّهُ أُولَئِكَ
(الإسراء: ٣٦) كَانَ مَسْئُولًا

Artinya :

“Dan Allah tidak menjadikan pemberian bala bantuan itu melainkan sebagai kabar gembira bagi kemenanganmu, dan agar tenang hatimu karenanya. Dan kemenanganmu itu hanyalah dari Allah”.

“YAKIN, IKHLAS, ISTIQOMAH”



PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, karya tulis skripsi ini aku persembahkan untuk:

1. Ibu dan Ayahku (Khoiriyah dan Moh. Adenan) yang telah memberikan banyak do'a dan motivasi dan untuk kedua saudaraku (Kholidun Amali dan Arini Dina Shofia) atas semua kasih sayang dan semangatnya
2. Bu Akyun, Bu Hafida, Pak Naim dan Pak Hanapi yang senantiasa sabar memberikan ilmu-ilmu serta nasehat-nasehatnya
3. Sahabat-sahabatku Herbal squad (Fajriya, Uswah, Olip dan Fathonah) dan seluruh teman-temanku tak terkecuali atas segala semangat dan do'a untuk kelancaran dalam penulisan skripsi ini

Semua proses ini tidak dapat berjalan lancar tanpa dukungan dari kalian. Semoga ilmu yang diperoleh selama ini dapat diterapkan, disalurkan, dan menjadi manfaat bagi banyak orang.

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum wa Rahmatullahi wa Barakaatuh

Alhamdulillahirobbil 'Alamin, segala puji bagi Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang telah memberikan nikmat tiada terukur sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "*Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Rimpang Kunyit Putih (Curcuma zedoaria Rosc.,) Dan Buah Pare (Mormodica charantia L.,) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)*". Shalawat serta Salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberi bimbingan ke jalan yang diridhoi Allah SWT.

Penyelesaian penelitian ini tidak lepas dari bantuan pihak. Oleh karena itu, seiring terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh rasa hormat, kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia.
2. Ibu Akyunul Jannah, S.Si., M.P. selaku pembimbing 1, Bapak Ahmad Hanafi, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing II
3. Ibu Hafidatul Hasanah, M.Si. selaku konsultan yang selalu meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
4. Bapak A. Ghana'im Fasya, M.Si., selaku penguji.
5. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa, semangat, materi, moril dan motivasi agar terus mengukir prestasi.
6. Herbal squad team kami yang selalu memberikan do'a dan semangat demi berjalannya penelitian ini.
7. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya penulis pribadi. Amin Ya Rabbal ‘Alamin.

Wassalamu’alaikum Wa Rahmatullahi Wa Barakaatuh

Malang, 30 Juni 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Batasan Masalah	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Menurut Prespektif Pandangan Islam	10
2.2 Kunyit Putih	12
2.2.1 Taksonomi.....	12
2.3 Buah Pare	14
2.2.1 Taksonomi.....	14
2.4 Metode Ekstraksi Maserasi	15
2.5 Antioksidan	18
2.2.1 Pengujian Antioksidan Menggunakan metode DPPH (1,1-Di fenil-2-pikrilhidrazil)	21
2.6 Uji Fitokimia Rimpang kunyit Putih dan Buah Pare	25
2.6.2 Alkaloid.....	25
2.6.2 Flavonoid	26
2.6.3 Tanin	27
2.6.4 Saponin	28
2.6.5 Steroid/Triterpenoid	29
2.7 Kromatografi Lapis Tipis.....	30
BAB III METODOLOGI	
3.1 Pelaksanaan Penelitian.....	32
3.2 Alat dan Bahan.....	32
3.2.1 Alat.....	32
3.2.2 Bahan	32
3.3 Rancangan Penelitian.....	33
3.4 Tahap Penelitian.....	33

3.5 Cara Kerja	34
3.5.1 Ekstraksi Senyawa Aktif Menggunakan Metode Maserasi	34
3.5.2 Uji Fitokimia	35
3.5.2.1 Uji Alkaloid	35
3.5.2.2 Uji Flavonoid	35
3.5.2.3 Uji Tanin	35
3.5.2.4 Uji Saponin	36
3.5.2.5 Uji Triterpenoid dan Steroid	36
3.5.3 Uji Antioksidan dengan DPPH	36
3.5.3.1 Penentuan panjang gelombang maksimum	36
3.5.3.2 Penentuan waktu kestabilan pengukuran antioksidan	36
3.5.3.3 Pengukuran potensi antioksidan pada sampel	37
3.5.4 Identifikasi Menggunakan Kromatografi lapis Tipis (KLTA)	38
3.5.4.1 Persiapan Plat KLT	38
3.5.4.2 Persiapan Fase Gerak (Eluen)	39
3.5.4.3 Penotolan sampel	40
3.5.4.2 Proses gerak	40
3.5.4.2 Identifikasi Noda	40
3.5.6 Analisis data menggunakan SPSS 16	41
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Ekstraksi Maserasi	42
4.2 Uji Fitokimia	43
4.2.1 Uji Alkaloid	45
4.2.2 Uji Flavonoid	47
4.2.3 Uji Tanin	49
4.2.4 Uji Saponin	50
4.2.5 Uji Triterpenoid dan Steroid	51
4.3 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	53
4.3.1 Penentuan panjang gelombang maksimum	53
4.3.2 Penentuan waktu kestabilan pengukuran antioksidan	54
4.3.3 Pengukuran potensi antioksidan pada sampel	55
4.4 Identifikasi Menggunakan Kromatografi lapis Tipis (KLTA)	61
4.4.1 Alkaloid	62
4.4.2 Flavonoid	63
4.4.3 Tanin	65
4.4.4 Saponin	66
4.4.5 Triterpenoid dan Steroid	67
4.5 Pemanfaatan Tumbuhan Rimpang Kunyit dan Buah Pare dalam Prespektif Islam	69
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	72
5.2 Saran	72
 DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN	85

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut.....	17
Tabel 2.4 Ketentuan kekuatan antioksidan	24
Tabel 4.1 Hasil berat dan randemen ekstrak etanol rimpang kunyit putih dan ekstrak buah pare	43
Tabel 4.2 Hasil uji Fitokimia Ekstrak etanol 96%	44
Tabel 4.3 Waktu kestabilan kombinasi Kunyit putih dan buah pare	55
Tabel 4.4 Nilai IC ₅₀ sampel kombinasi ekstrak etanol dan Asam Askorbat	57
Tabel 4.5 Data nilai Rf senyawa alkaloid ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B	63
Tabel 4.6 Data nilai Rf senyawa Flavonoid ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B	64
Tabel 4.7 Data nilai Rf senyawa Tanin ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B	65
Tabel 4.8 Data nilai Rf senyawa Saponin ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B	66
Tabel 4.9 Data nilai Rf senyawa Triterpenonid ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B	68

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Kunyit Putih	13
Gambar 2.2 Buah Pare	14
Gambar 2.3 Asam askorbat (vitamin C)	20
Gambar 2.4 Reaksi inisiasi dan propagasi asam lemak	21
Gambar 2.5 Reaksi terminasi oksidasi lemak	21
Gambar 2.6 Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH	23
Gambar 2.7 Struktur Alkaloid	25
Gambar 2.8 Senyawa Flavonoid	27
Gambar 2.9 Senyawa Tanin	28
Gambar 2.10 Senyawa Saponin	29
Gambar 2.11 Skualena (Struktur dasar golongan senyawa triterpenoid) senyawa Lanosterol senyawa triterpenoid tetrasiklik)	30
Gambar 4.1 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi dragendroff	46
Gambar 4.2 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Meyer	47
Gambar 4.3 Reaksi dugaan flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat	48
Gambar 4.4 Reaksi dugaan antara tanin dengan FeCl ₃	49
Gambar 4.5 Reaksi dugaan pembentukan busa pada uji saponin	50
Gambar 4.6 Dugaan reaksi triterpenoid dengan Liebermann-Burchard	52
Gambar 4.7 Spektra larutan DPPH 0,2 mM	53
Gambar 4.8 Grafik persen aktivitas antioksidan dari sampel dan pembanding	56
Gambar 4.9 Reaksi DPPH dengan metabolit sekunder	58
Gambar 4.9 Peredaman radikal bebas oleh Alkaloid	59

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Gambar 1. Rancangan Penelitian	85
Gambar 2. Skema Kerja	86
Gambar 3. Pembuatan Reagen dan Larutan	88
Gambar 4. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan	95
Gambar 5. Dokumentasi	110
Gambar 6. Hasil Analisis SPSS <i>One way ANOVA</i>	124



ABSTRAK

Suriyawati, N. 2018. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.,) dan Buah Pare (*Momordica charantia* L.,) menggunakan Metode DPPH**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Akyunul Jannah, S.Si, M.P.; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Si ; Konsultan: Hafidatul Hasanah, M.Si.

Kata Kunci : *Curcuma zedoaria* Rosc., *Momordica charantia* L., Antioksidan, DPPH

Rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria* L) dan Buah Pare (*Momordica charantia*, L.,) merupakan salah satu tanaman tradisional yang dimanfaatkan oleh manusia karena banyak manfaat dan kandungan senyawa metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kombinasi rimpang kunyit putih dan buah pare serta kandungan metabolit sekunder dari kombinasi yang terbaik.

Rimpang kunyit putih dan Buah Pare diekstraksi dengan pelarut etanol 96 % menggunakan metode maserasi. Ekstrak sampel tunggal rimpang kunyit putih dan buah pare dikombinasi dengan variasi perbandingan (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7). Senyawa metabolit sekunder diidentifikasi dengan reagen. Kombinasi ekstrak diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Senyawa metabolit sekunder pada sampel tunggal hasil positif uji fitokimia dan sampel kombinasi yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dilakukan pemisahan dengan KLTA.

Kombinasi dengan variasi perbandingan rimpang kunyit putih dan buah pare (3:1) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu dengan IC_{50} 68,50 ppm. Hasil pemisahan senyawa metabolit sekunder menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak (3:1) terdapat golongan senyawa metabolit sekunder dengan eluen terbaik hasil KLTA secara berurutan yaitu alkaloid dengan eluen metanol:kloroform (4:1); flavonoid dengan eluen metanol:kloroform (7:3); tanin dengan eluen n-heksan:etil asetat (3:2); saponin dengan eluen kloroform:aseton (4:1); triterpenoid dengan eluen n-heksan:etil asetat (7:3).

ABSTRACT

Suriyawati, N. 2018. **The Test Antioxidant Activity of 96% Ethanol Extract on Combination White turmeric rhizome (*Curcuma zedoaria* Rosc.) and Bitter Melon (*Momordica Charantia* L.) using DPPH Method.** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim of Malang. Supervisor I: Akyunul Jannah, S.Si, M.P.; Supervisor II: Ahmad hanapi, M.Sc; Consultant: Hafidatul Hasanah, M.Si.
Keywords : *Curcuma zedoaria* Rosc., *Momordica charantia* L., Antioxidant, DPPH

White turmeric rhizome (*Curcuma zedoaria* L.) and Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) is one of the traditional plants that are used by humans due to the benefits and the content of secondary metabolite compounds. The purposes of the research are to know the antioxidant activity of combination 96% ethanol extract of white turmeric rhizome and bitter melon and secondary metabolite content from the best combination.

White turmeric rhizome and bitter melon were extracted by 96% ethanol solvent using maceration method. Single sample extract of white turmeric rhizome and bitter melon were with variation of ratio (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7). Secondary metabolites were identified by reagent. Combination of extracts were tested antioxidant activity using DPPH method. Secondary metabolites in a combination that has the highest antioxidant activity were separated by Analytical TLC.

The combination with ratio varieties of white turmeric rhizome and bitter melon (3:1) had the highest antioxidant activity with value IC_{50} 68,50 ppm. The results of separation of secondary metabolite compound showed that the combination of extract (3:1) there is class of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids with the best eluent in separating is chloroform: methanol (1:4); methanol: chloroform (7:3); n-hexane: ethyl acetate (3:2); chloroform: acetone (4: 1); n-hexane: ethyl acetate (7: 3).

المخلص

سوريواتي، ن. ٢٠١٨. اِخْتِيارُ النِّشَاطِ المضاد للأكسدة في جمع استخراج الإيثانول ٩٦٪ على جذور كركم الأبيض او جورجومازيديوواري رسج (*Curcuma zedoaria Rosc.*,) و باري الفاكهة مومورديجا جاراتنتي ل (*Momordica charantia L.*) باستخدام طريقة DPPH . البحث الجامعية. شعبة الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: أعين الجنة، الماجستير المشرف الثاني: أحمد حنفي، الماجستير؛ المستشار: حفيدة الحسنة، الماجستير

الكلمات الأساسية: جورجومازيديوواري (*Curcuma zedoaria Rosc.*)، مومورديجا جاراتنتيا ل (*Momordica charantia L.*)، المضاد للأكسدة، DPPH.

جذور كركم الأبيض (جورجومازيديوواري) و باري الفاكهة (مومورديجا جاراتنتيا) هي واحدة من النباتات التقليدية التي تستخدم للإنسان لأن هناك فوائد كثيرة ومحتوى مركب مستقلب الثاني. والاهداف البحث هي لمعرفة تحديد النشاط المضاد للأكسدة في استخراج الإيثانول ٩٦٪ من جمع جذور كركم الأبيض و باري الفاكهة ومحتوى مركب مستقلب الثاني من افضل مركب المضاد الاكسدة.

استخرج جذور كركم الابيض و باري الفاكهة با الإيثانول ٩٦% طريقة مستخرج الواحدة جذور كركم الأبيض : باري الفاكهة و تركيب موضع مقارنة (٧:١؛ ٣:١؛ ١:١؛ ١:٣؛ ١:٧). وتحديد مركب مستقلب الثاني بالكاشف. واختبر جمع استخراج عملية مضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH. ومركب مستقلب الثاني عينان الواحدة هي نجحة الايجابية من اختباري النبانية وعينات الجمعية التي تملك عملية مضاد الألكسدة الأعلى تفصل كروماتوغرافي رقيقة اللونى تحليلى.

مركب جذور كركم الابيض و الفاكهة الباري (٣:١) المضادة للأكسدة بقيمة IC₅₀ (٦٨,٥٠) ppm. قد أظهرت نتيجة فصل بين مركب مستقلب الثاني با الشاطف الاخير كروماتوغرافي رقيقة اللونى تحليلى من جمع المستخرج الشاطف هناك المجموعات الكالويد بالشاطف ميتانول : كلوروفوم (١:٤)؛ الفلافونيد بالشاطف ميتانول : كلوروفوم (٣:٧)؛ التانين بالشاطف ن-هيكسان : ايثيل اسيتات (٢:٣)؛ السابونين بالشاطف كلوروفوم: اسيتون (١:٤)؛ والتيريتريفيويد (٣:٧).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang mempunyai keanekaragaman hayati terbesar ketiga setelah Brazil dan Zaire, diperkirakan sekitar 30.000 jenis tumbuhan ditemukan di hutan Indonesia. Berdasarkan data tersebut hanya ± 180 spesies diantaranya yang dimanfaatkan dalam industri farmasi di Indonesia. Salah satu tumbuhan yang digunakan adalah tanaman herbal. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat kurang maksimal karena hanya berdasarkan pada pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun tanpa diketahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan tersebut (Attamimi, 2001).

Tanaman herbal ini dapat membantu dalam mengobati beberapa jenis penyakit di Indonesia, mulai dari penyakit ringan bahkan sampai penyakit kronis dapat diobati seperti *stroke*, diabetes, penyakit kanker dan penyakit degeneratif yang lain. Salah satu tanaman herbal yang sering digunakan adalah sirsak, mengkudu, kunyit putih, buah pare dan lain-lain, yang dijadikan untuk segala pengobatan penyakit (Rohmatussolihat, 2009).

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab penyakit yang menyerang sel tubuh manusia. Radikal bebas terdapat dalam tubuh manusia, sebagai hasil samping dari proses pembentukan energi. Radikal bebas dalam jumlah sedikit dibutuhkan tubuh untuk membantu sel darah putih membunuh kuman. Apabila radikal bebas terlalu banyak, maka akan merusak tubuh. Oleh karena itu, dibutuhkan senyawa antioksidan yang dapat menyumbangkan satu atau lebih

elektron pada radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat diredam (Winarsi, 2007).

Penelitian ini akan menggunakan sampel ramuan rimpang kunyit putih dan buah pare. Hal ini dimaksudkan agar lebih banyak senyawa aktif yang dapat terekstrak. Allah SWT menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini pasti memiliki tujuan dan memberikan manfaat. Hanya saja belum semua kita ketahui kebaikan yang ada dibalik sesuatu (tumbuhan) ciptaan-Nya. Firman Allah SWT dalam al Qur'an surat as Syu'ara ayat 7-8 :

أُولَٰئِكَ يَرْوُونَ إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya : *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman .*

Firman Allah SWT dalam surat as Syu'ara ayat 7 - 8 terdapat **زوج كريم** yang menggambarkan segala sesuatu yang baik sebagai sifat yang dijadikan objek yaitu tumbuh-tumbuhan. Menurut Shihab (2002), tumbuhan yang thayyib adalah tumbuhan yang bermanfaat sebagai multifungsi bagi para makhluk hidup. Allah menciptakan tumbuhan untuk dimanfaatkan manusia dengan baik, manusia diharapkan dapat berfikir dalam memanfaatkan tumbuhan di muka bumi ini, salah satunya adalah dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat herbal yang dijadikan sebagai pengobatan untuk beberapa penyakit. Sehingga, dapat bermanfaat bagi kehidupan manusia. Hal ini menunjukkan salah satu ayat atau tanda dari kekuasaan Allah SWT sebagaimana yang dimaksud dalam ayat

tersebut. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah buah pare (*Momordica charantia L.*) dan kunyit putih (*Curcuma Zedoaria Rosc.*).

Buah pare (*Momordica charantia L.*) merupakan salah satu tanaman herbal untuk dijadikan ramuan obat. Salah satu pemanfaatan buah pare secara herbal diantaranya adalah dapat memiliki nilai aktivitas yang berpotensi sebagai obat antikanker dengan nilai LC_{50} 22,1871 $\mu\text{g/ml}$, antimalaria dengan nilai IC_{50} 0,39 $\mu\text{g/mL}$, antioksidan dengan nilai IC_{50} 17,191 $\mu\text{g/ml}$, antidiabetes IC_{50} 69,239 %, antibakteri dengan nilai IC_{50} 15 mg/L (Zahrah, dkk., 2010; Fongmoon, dkk., 2013; Susilawati, 2014; Wibowo, 2015). Buah pare mengandung beberapa senyawa aktif diantaranya adalah flavonoid, fenolik, Saponin, dan alkaloid (Yuda, 2013 dan Ellita, 2014). Uji efektivitas ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia L.*) terdeteksi mengandung senyawa-senyawa antioksidan diantaranya adalah alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid (Oom Komala, 2012).

Kunyit putih (*Curcuma zedoaria Rosc.*) merupakan salah satu dari sekian banyak tanaman obat tradisional di Indonesia. Kunyit putih dapat digunakan sebagai obat penangkal racun, penurun panas tubuh karena demam, pencahar, bronkhitis, asma, hingga radang yang disebabkan oleh luka (Fauziah, 1999 dan Maflikha, 2014) dan memiliki nilai aktivitas yang berpotensi sebagai obat antiproliferasi dengan nilai LC_{50} 60,3 $\mu\text{g/ml}$, antibakteri dengan nilai IC_{50} 250 $\mu\text{g/mL}$, antioksidan dengan nilai IC_{50} 16,05 $\mu\text{g/mL}$, antikanker dengan nilai IC_{50} 30.7 $\mu\text{g/ml}$, analgesik dengan nilai IC_{50} 91,67% dan anti-hiperlipidemik dengan nilai IC_{50} 16,35 $\mu\text{g/ml}$ (Tholkappiyavathi, dkk., 2013; Bayala, dkk., 2014; Muharni, dkk., 2014; Saifuddin, dkk., 2014). Kunyit putih memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari flavonoid, alkaloid, tanin, saponin,

polifenol, glikosida, triterpenoid dan alkaloid (Nri, 2004; Elfira, 2010; Maflikha, 2014).

Penelitian ini akan dilakukan ekstraksi dari rimpang kunyit putih dan buah pare. Berdasarkan penelitian terdahulu buah pare dan kunyit putih memiliki kandungan senyawa aktif yang sama yaitu flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpenoid (Nri, 2004; Elfira, 2010; Ellita, 2013; Yuda, 2013; Maflikha, 2014). Hasil penelitian Nihlati (2011) menjelaskan bahwa pada *family* yang sama dengan kunyit putih yaitu rimpang temu kunci memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 10,36 $\mu\text{g/mL}$ yang disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid lainnya atau turunannya. Sedangkan penelitian (Kamtekar dkk., 2014) uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol pada buah pare (*Momordica charantia L.*) mengandung senyawa flavonoid (Quersetin) dengan memiliki nilai IC_{50} 5,46 mg/ml.

Senyawa metabolit sekunder dapat diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode maserasi merupakan pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolve like*), dimana senyawa yang non polar akan larut dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar (Siedel, 2008). Melihat kandungan senyawa aktif pada kunyit putih dan buah pare, maka perlu dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi maserasi merupakan salah satu metode yang sangat sesuai digunakan untuk memperoleh ekstrak karena ekstraksi maserasi dilakukan dalam suhu ruang dan tanpa pemanasan yang dapat merusak struktur senyawa metabolit sekunder. Menurut Bimakra (2010) etanol merupakan pelarut yang aman dengan toksisitas rendah bila dibandingkan dengan metanol. Hasil toksisitas

etanol LC_{50} 92,8 ppm sedangkan metanol LC_{50} sebesar 358,18 ppm (Diasuti, dkk., 2008). Ekstraksi maserasi pelarut etanol 96% kunyit memberikan nilai rendemen sebesar 15,006% dan bangle sebesar 8,62% (Patonah, 2014), temulawak famili *Zingiberaceae* sebesar 7,91% (Rini, 2011), rimpang temu kunci sebesar 11,65% (Nihlati, 2007). Dan pada buah pare memberikan rendemen sebesar 6,3% (Komala, 2012). Hasil ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare dicampur menjadi ekstrak campuran rimpang kunyit putih dan buah pare dengan uji fitokimia serta uji antioksidan menggunakan DPPH.

Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit (Subeki, 1998). Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung senyawa yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid. Pengujian antioksidan ekstrak ramuan kunyit putih dan buah pare akan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH.

Metode DPPH merupakan metode pengukuran aktivitas antioksidan yang stabil, sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat, sesuai untuk komponen antioksidan yang bersifat polar karena kristal DPPH hanya dapat larut dan memberikan absorbansi maksimum pada pelarut etanol maupun metanol (Hanani, dkk., 2005). Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah efisiensi (EC_{50}) atau konsentrasi inhibisi (IC_{50}) (konsentrasi substrat untuk menghasilkan 50% reduksi dari DPPH) (Molyneux, 2003). Semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan bahwa antioksidan semakin besar. Yuliani (2010) membandingkan aktivitas

antioksidan fraksi etanol jintan hitam menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrihidrazil*), FTC (*Ferri Tiosianat*) dan TBA (*Thiobarbituric Acid*) didapatkan nilai aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH sebesar 22,483% dengan nilai IC_{50} 2473,59. Sedangkan pada metode FTC dan TBA memberikan aktivitas antioksidan yang tidak valid.

Saraswaty (2013) melakukan uji aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak etanol kulit manggis, daun sirsak, dan daun sirih merah, menghasilkan kombinasi ekstrak dengan variasi dosis Low:High:High:Low untuk setiap ekstrak secara berurutan pada perbandingan volume yang sama (1:1:1:1) memiliki aktivitas tertinggi dengan kemampuan inhibisi sebesar 93,73%. (Rahman, 2008) memberikan informasi bahwa pada ekstrak kombinasi temulawak dan kunyit (1:1) memiliki persen inhibisi 98,75%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan, $IC_{50} < 50$ ppm tergolong sangat kuat (Hidajat, 2005; Filbert 2014).

Pemisahan senyawa golongan flavonoid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara sederhana untuk pemisahan senyawa aktif berdasarkan perbedaan distribusi fasa diam dan fasa gerak (Gandjar dan Rohman, 2007). Pemisahan KLTA menggunakan eluen campuran yaitu pelarut n-heksana:etil asetat (HE) (7:3) dan n-butanol-asam asetat-air (BAA) (4:1:5). Noda tunggal yang terbentuk menunjukkan nilai (R_f) 0,86 (HE) (Rohmaniyah, 2016); 0,64 dan 0,4 (BAA) (Koirewoa, 2012 dan Hasanah, 2015).

Ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare dicampur menjadi ramuan herbal sehingga semakin banyak senyawa aktif yang dapat terekstrak. Semakin banyak senyawa aktif yang terekstrak maka aktivitas antioksidan semakin besar.

Penelitian mengenai ramuan obat herbal (ramuan kunyit putih dan buah pare) sebagai antioksidan dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang digunakan sebagai skrining awal pengujian aktivitas antikanker.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana aktivitas antioksidan senyawa aktif dari kombinasi rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dan buah pare (*Momordica charantia* L.) dengan metode DPPH?
2. Golongan senyawa aktif apa yang terdapat dalam ekstrak etanol 96% dari kombinasi rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dan buah pare (*Momordica charantia* L.) pada aktivitas antioksidan terbaik dengan menggunakan pemisahan KLTA?

1.3 Tujuan

Berdasarkan latar belakang diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari kombinasi buah pare (*Momordica charantia* L.) dan kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dengan metode DPPH.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol 96% dari kombinasi rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dan buah pare (*Momordica charantia* L.) dengan aktivitas antioksidan yang terbaik dengan menggunakan pemisahan KLTA.

1.4 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah rimpang kunyit putih dan buah pare yang diperoleh dari Materia Medica Batu Malang.
2. Ekstraksi rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria Rosc.*) dan buah pare (*Momordica charantia L.*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.
3. Ekstrak kombinasi rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria Rosc.*) dan buah pare (*Momordica charantia L.*) dicampur dengan variasi perbandingan komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7) 10.000 ppm.
4. Uji Aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenil -2- picrylhydrazyl*).
5. Identifikasi senyawa metabolit sekunder kombinasi rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria Rosc.*) dan buah pare (*Momordica charantia L.*) menggunakan uji reagen fitokimia dan KLTA.
6. Identifikasi KLTA menggunakan ekstrak kombinasi dari hasil uji aktivitas antioksidan yang terbaik dan ekstrak tunggal sebagai pembanding.
7. Analisa data menggunakan Program SPSS.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan kombinasi rimpang kunyit (*Curcuma zedoaria Rosc.*) dan buah pare (*Momordica charantia L.*) yang dapat digunakan sebagai

tanaman obat alami, sehingga dapat dikaji lebih lanjut khususnya dibidang farmakologi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Menurut Prespektif Pandangan Islam

Tumbuhan kunyit putih dan buah pare merupakan tumbuhan yang memiliki berkhasiat dan bermanfaat sebagai obat. Kajian tumbuhan sebagai obat dalam prespektif islam telah dijelaskan dalam firman Allah SWT. Allah SWT menciptakan alam dan isinya seperti hewan dan tumbuh-tumbuhan mempunyai hikmah yang amat besar, semuanya tidak ada yang sia-sia dalam ciptaan-Nya Manusia diberikan kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan tersebut (Farooqi, 2005).

Tumbuhan adalah makhluk hidup yang tumbuh dan terdapat di alam semesta. Tumbuhan merupakan sesuatu yang tumbuh, segala yang hidup, berbatang, berdaun dan berakar. Tumbuhan juga dapat melangsungkan proses fotosintesis dengan bantuan dari sinar matahari. Hampir semua bagian dari tumbuhan dapat kita manfaatkan. Salah satu manfaat tumbuhan adalah sebagai obat herbal. Bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah bagian daun, batang, akar, rimpang, bunga, buah dan bijinya. Sebagaimana disebutkan dalam surat Luqman ayat 10 :

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوَنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya : Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (diperukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik. (QS Luqman : 10).

Berdasarkan ayat tersebut, lafadz *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Allah SWT menumbuhkan dari tumbuhan bermacam-macam berbagai macam tumbuhan yang baik untuk makhluk-Nya. Hal ini juga sesuai dengan firman Allah SWT yang menyebutkan bahwa Allah SWT menurunkan segala sesuatu di bumi, termasuk tumbuh-tumbuhan, tidak lain adalah agar dapat memberikan manfaat bagi manusia sebagaimana sabda Nabi Muhammad SAW:

حَدَّثَنَا مُؤَمَّلٌ حَدَّثَنَا سُفْيَانُ عَنْ عَطَاءِ يَغْنَى ابْنِ السَّائِبِ عَنْ أَبِي عَبْدِ الرَّحْمَنِ عَنْ عَبْدِ اللَّهِ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: مَا أَنْزَلَ اللَّهُ عَزَّ وَجَلَّ دَاءً إِلَّا لَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً أَعْلَمَهُ مَنْ عِلْمَهُ وَجَهَلَهُ مَنْ جَهْلَهُ (رواه أحمد)

Artinya : *“Telah menceritakan kepada kami mu'ammal telah mengabarkan kepada kami sufyan dari 'atha` yakni Ibnu As-Sa`ib dari Abu Abdurrahman dari Abdullah ia berkata; Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: "Allah Azza wa Jalla tidak menurunkan penyakit melainkan Dia turunkan pula penawarnya, yang diketahui maupun yang tidak." (HR. Ahmad)*

Hadits diatas menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah SWT yang memberikan suatu penyakit beserta penawarnya (obat) pengetahuan yang akan menuntun manusia untuk menemukan obat-obatan yang telah tersedia di alam, seperti obat dari tanaman. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuan, maka tidak akan pernah tahu adanya obat yang berasal dari tanaman yang biasanya tidak dihiraukan. Semua tumbuhan memiliki susunan dan bentuk yang berbeda. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah SWT tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda. Misalnya tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai tanaman obat seperti tumbuhan kunyit putih dan buah pare.

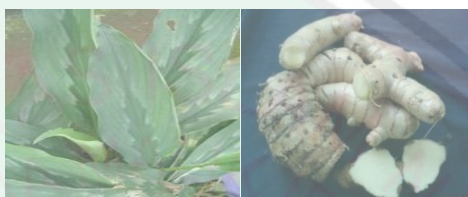
Banyak sekali tanaman herbal yang dimiliki tumbuhan. Tanaman herbal ini diantaranya adalah kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dan buah pare. Tanaman herbal kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dan buah pare (*Momordica charantia* L.) merupakan tanaman herbal yang diduga memiliki zat antikanker. Tanaman herbal *Curcuma zedoaria* Rosc., ini mengandung senyawa ,antioksidan seperti kurkuminoid, minyak atsiri, astringensia, flavonoid, sulfur, gum, resin, tepung, sedikit lemak. Di China dan Jepang, tanaman ini digunakan secara tradisional untuk mengatasi perut kembung, batuk, gangguan menstruasi, dispepsia, penghangat tubuh, demam, dan muntah. Selain itu, bagian rimpang dapat digunakan sebagai penawar rasa sakit, dan diuretik (Maflikha, 2014). Sedangkan, buah pare (*Momordica charantia* L.) Menurut Yuda (2013) juga memiliki kandungan senyawa aktif antioksidan diantaranya adalah flavonoid, fenolik, saponin, dan alkaloid. tanaman ini terletak pada kandungan protein momorcharin alfa dan beta, atau pada protein MAP30 (*Momordica* Antiviral Protein 30).

2.2 Kunyit putih

2.2.1 Taksonomi

Kunyit merupakan tanaman obat berupa semak dan bersifat tahunan yang tersebar di seluruh daerah tropis. Tanaman kunyit tumbuh subur dan liar disekitar hutan/bekas kebun. Diperkirakan berasal dari Binar pada ketinggian 1.300-1.600 m dpl, ada juga yang mengatakan bahwa kunyit berasal dari India. Tanaman ini banyak dibudidayakan di Asia Selatan khususnya di India, Cina Selatan, Taiwan, Indonesia (Jawa), dan Filipina (Amirullah, 2008). Klasifikasi kunyit putih menurut Plantamor (2008) :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
Sub Kelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: <u>Zingiberaceae</u> (suku jahe-jahean)
Genus	: <i>Curcuma</i>
Spesies	: <i>Curcuma zedoaria</i> Rosc.,



Gambar 2.1 Kunyit Putih (Suryanto, 2010)

Secara tradisional kunyit putih sering digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh mikroba parasit, gigitan serangga, cacar, diare, sembelit, kembung, gangguan pencernaan, mengurangi rasa nyeri dan sakit pada penderita rematik arthritis (Warta Penelitian, 2013) Menurut Plantus (2008), rimpang dan daunnya mengandung saponin dan folifenol. Selain itu, dapat mengobati gangguan pencernaan, sakit perut, keseleo, menghentikan peredaran darah, anti inflamasi, menambah nafsu makan, dan anti neoplastik (merusak pembentukan ribosom pada sel kanker) (Plantus, 2008).

Menurut Maflikha (2014) Kunyit putih memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari flavonoid, alkaloid dan tanin, yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antifungal, antikanker, antialergi, antioksidan, dan analgesik dengan mekanisme penghambatan yang spesifik. Penelitian Elfira (2010) menyebutkan bahwa Senyawa lain juga ditemukan pada rimpang kunyit putih seperti: tanin, glikosida, triterpenoid dan alkaloid. Berdasarkan penelitian

tersebut, menunjukkan bahwa flavonoid terdapat dalam Kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rocs.,).

2.3 Buah Pare

2.3.1 Taksonomi

Pare mempunyai banyak nama di beberapa daerah di antaranya paria, pare (Jawa) poya, pudu (Sulawesi) papariane (Maluku) paya (Nusa Tenggara). Pare banyak terdapat di daerah tropis tumbuh baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan, atau dibudidayakan dan ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar untuk diambil buahnya. Tanaman ini tidak memerlukan banyak sinar matahari sehingga dapat tumbuh subur di tempat-tempat yang agak terlindung (Depkes RI, 2001). Klasifikasi buah pare adalah sebagai berikut (Suryanto, 2010):

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Subdivisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Classis	: Magnoliopsida (Tumbuhan berbunga)
Ordo	: Violales
Familia	: Cucurbitaceae
Genus	: Momordica
Spesies	: <i>Momordica charantia</i> L.



Gambar 2.2 Buah Pare (Suryanto, 2010)

Pare dapat terna setahun, merambat atau memanjat dengan alat pembelit (sulur) berbentuk spiral, bercabang banyak, berbau tidak enak. Batang berusuk lima, panjang 2-5 m dan yang muda berambut rapat. Buah bulat memanjang dengan 8-10 rusuk, berbintil-bintil tidak beraturan, panjang 8-30 cm, rasa pahit, berwarna hijau, menjadi jingga yang pecah dengan tiga katup jika masak. Rasa pahit buah ini menimbulkan beberapa manfaat diantaranya merangsang nafsu makan, menyembuhkan penyakit kuning, melancarkan pencernaan (Dinas Pertanian, 1996).

Menurut Yuda (2013) Buah pare mengandung beberapa senyawa aktif diantaranya adalah flavonoid, fenolik, saponin, dan alkaloid. Sedangkan hasil penelitian Oom Komala (2012) menginformasikan bahwa uji efektivitas ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia L.*) terdeteksi mengandung senyawa-senyawa antioksidan diantaranya adalah alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid. Penelitian yang lain juga menyebutkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat pada buah pare adalah alkaloid, saponin dan triterpenoid (Ellita, 2014)

2.4 Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah salah satu ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Hal tersebut mengakibatkan

metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Lama perendaman yang diatur akan menghasilkan ekstraksi yang sempurna. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut (Indrayani, *et al.*, 2006).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Voight, 1995).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah, pelarut dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawa yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Kelarutan terhadap air dari pelarut juga semakin tinggi dengan semakin tinggi tingkat kepolarannya. Titik didih etanol yaitu 78 °C (Sudarmadji, 2003).

Pemilihan pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Tabel 2.1 Menunjukkan fisik beberapa jenis pelarut organik yang dapat digunakan dalam penelitian ini. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan

bersifat semakin polar (Sudarmadji, 2007). Konstanta dielektrikum beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.1 (Sax, 1998).

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Petroleum Eter	2,28	TL	60
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Butanol	15,80	S	117,2
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan : TL = Tidak larut; S=sedikit; L=Larut dalam berbagai proporsi

Sumber : sax (1998), HAM (2006), Fessenden dan Fessenden (1997), dan Mulyono (2006)

Penelitian Veight (1985) telah melakukan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi merupakan pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolve like*), dimana senyawa yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar (Siedel, 2008). Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi akan mempengaruhi hasil kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstraksi. Menurut Bimakra (2010) etanol merupakan pelarut yang aman dengan toksisitas rendah bila dibandingkan dengan metanol. Selain itu, hasil ekstrak kasar dan konsentrasi yang tinggi dan bioaktif senyawa metabolit sekunder pada tanaman bisa diisolasi dengan pelarut tersebut.

Beberepa penelitian dengan menggunakan pelarut etanol 96% menggunakan ekstrak maserasi diantaranya adalah hasil penelitian (Hendro, 2013) yaitu penelitian dengan menggunakan pelarut etanol 96% yang dipilih

untuk menghasilkan ekstrak yang kental (murni) sehingga mempermudah untuk proses identifikasi. Pada penelitian lain, Asri Widyasanti (2016) melakukan uji ekstrak teh putih dibuat dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol 96%. Nilai IC_{50} dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 96% berturut-turut adalah 203,7846 ppm; 11,207 ppm dan 5,153 ppm. Sedangkan, kadar polifenol dari ekstrak teh putih dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol 96% berturut-turut adalah 22,01 %; 57,54% dan 59,32

2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu untuk menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi dari suatu substansi dan mudah teroksidasi melalui oksidasi radikal bebas dengan suatu zat oksidan (Hafid, 2003). Menurut Best (2006), antioksidan adalah molekul yang menetralkan radikal bebas dengan cara menerima atau memberikan elektron untuk mengeliminasi kondisi tidak berpasangan. Sehingga, antioksidan menjadi radikal pada proses netralisasi. Tetapi radikal antioksidan lebih tidak reaktif daripada radikal bebas yang akan dinetralkan. Radikal antioksidan ini dapat dinetralkan oleh antioksidan lain atau dengan mekanisme lain yang dapat menghentikan radikal.

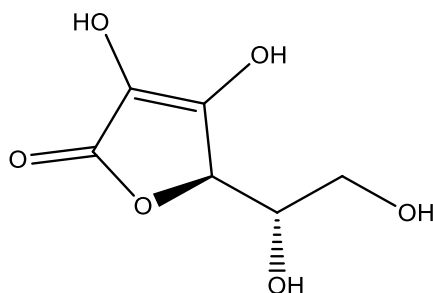
Konsumsi dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis, dan lain-lain. Makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan untuk kelompok semua umur (Winarsi, 2007).

Antioksidan terdapat dalam beberapa bentuk diantaranya vitamin, mineral, dan reagen. Berbagai tipe antioksidan bekerja sama melindungi sel normal dan menetralkan radikal bebas (Andayani, dkk., 2008). Makanan seperti vitamin C, vitamin E, flavonoid, dan karoten.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu, antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis kimia. Antioksidan alami adalah hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan yang memiliki kandungan antioksidan. Kandungan senyawa sangat berhubungan erat dengan komposisi senyawa kimia yang terdapat di dalamnya (Kulicic, 2006). Semakin tinggi kandungan antioksidan di dalam bahan maka akan semakin besar senyawa radikal untuk menghambat.

Antioksidan alami toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintetis (Madhavi, 1996). Antioksidan sintetis BHA, BHT, PG dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki antioksidan lebih tinggi daripada antioksidan sintetis. Karena ini, antioksidan alami mulai meningkat penggunaannya dan menggantikan antioksidan sintetis.

Vitamin C (L- Asam askorbat) merupakan suatu antioksidan alami yang paling penting dan larut dalam air. Vitamin C secara efektif menangkap radikal-radikal $O_2\cdot$, $OH\cdot$, $ROO\cdot$ dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E. Adapun struktur vitamin C dapat dilihat pada Gambar 2.3.



L-Asam askorbat

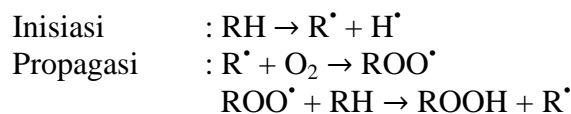
Gambar 2.3 Asam askorbat (vitamin C)

Menurut Kochar dan Rosel (1990) Antioksidan dapat bekerja dengan dua cara:

1. Berperan sebagai donor atom hidrogen pada radikal bebas lemak untuk membentuk kembali molekul lemak. Dengan demikian jika antioksidan diberikan maka akan menghambat proses antioksidan
2. Berperan sebagai donor atom hidrogen pada radikal bebas untuk membentuk hidroperoksida dari sebuah radikal bebas antioksidan. Radikal bebas antioksidan ini lebih stabil daripada radikal bebas lemak karena struktur resonansi elektron dalam cincin aromatik antioksidan. Dengan demikian akan menghentikan reaksi oksidasi berantai.

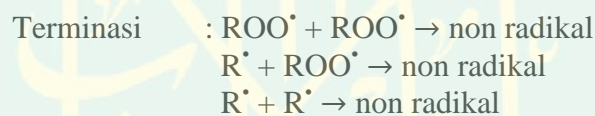
Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak yaitu suatu senyawa turunan asam lemak (R^{\bullet}) yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hidrogen (H^{\bullet}). Tahap selanjutnya, yaitu tahap propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^{\bullet}). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak

menghasilkan hidrokperoksida (ROOH) dan radikal asam lemak baru (R[•]) (Nugroho, 2013):



Gambar 2.4 Reaksi inisiasi dan propagasi asam lemak (Nugroho, 2013)

Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas rasa makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal Gambar 2.5. (Nugroho, 2013):



Gambar 2.5 Reaksi terminasi oksidasi lemak (Nugroho, 2013)

2.5.1 Pengujian Antioksidan menggunakan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*)

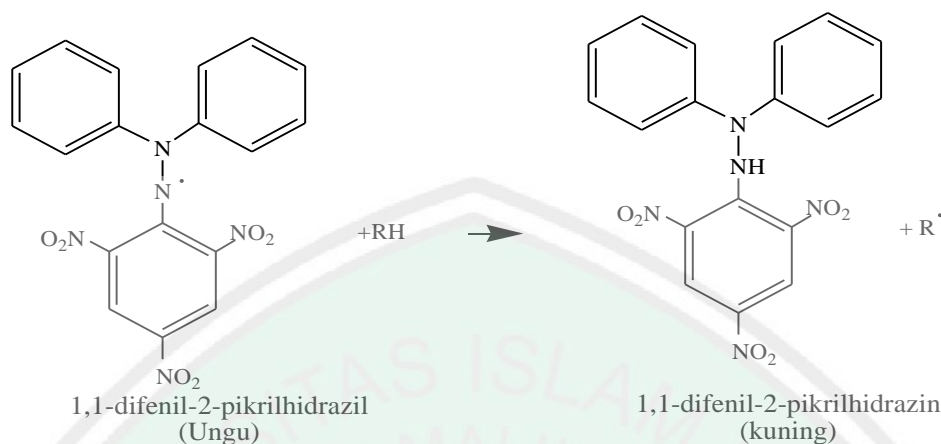
Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun non polar. Beberapa metode lain terbatas mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam

analisa. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak atau pun dalam air (Prakash, 2001).

Metode ini akan bekerja dengan baik menggunakan pelarut metanol atau etanol dan kedua pelarut ini tidak mempengaruhi dalam reaksi antara sampel uji sebagai antioksidan dengan DPPH sebagai radikal bebas (Molyneux, 2004) dan metode ini dipilih karena mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Cahaya tampak pada panjang gelombang 517 nm memberikan warna ungu (Day, 1998). DPPH mempunyai massa molar (M_r) ($C_{18}H_{12}N_5O_6 = 394,33$) (Molyneux, 2004).

Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu dan akan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektron tidak berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen, sehingga peningkatan pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, daya antioksidan yang diperoleh dengan menghitung jumlah intensitas pengurangan warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji. DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan

radikal antioksidan (prakash ,2001). Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH disajikan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH (Prakash, 2001)

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan (Prakash, 2001).

Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan satuan % aktivitas. Nilai ini diperoleh dengan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots (2.1)$$

Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur metode DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Sedangkan blanko yang digunakan adalah etanol 96%. Berdasarkan rumus tersebut, maka akan semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal bebas (Molyneux, 2004). Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok aktivitas DPPH. Tetapi, nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan dalam pengukuran pada saat itu. Apabila tidak ada

perubahan-perubahan nyata pada nilai ini (seperti contoh, pada saat pengulang pengukuran pada saat itu) mengindikasikan pada saat pengukuran tersebut (termasuk spektrofotometer⁺ RH⁺ R* atau fotometer) adalah sangat stabil. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran. Penelitian Yuliani (2010) membandingkan aktivitas antioksidan fraksi etanol jintan hitam menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), FTC (*Ferri Tiosianat*) dan TBA (*Thiobarbituric Acid*) didapatkan nilai aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH sebesar 22, 483% dengan nilai IC₅₀ 2473,59 sedangkan pada metode FTC dan TBA memberikan aktivitas antioksidan yang tidak valid.

Metode DPPH terdapat parameter IC₅₀. Parameter IC₅₀ merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil IC₅₀ suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman, 2005). Secara spesifik, ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.4 Dibawah ini:

Tabel 2.2 Ketentuan kekuatan antioksidan

No	Nilai IC ₅₀	Kekuatan
1	<50ppm	Sangat Kuat
2	50-100 ppm	Kuat
3	100-150 ppm	Sedang
4	150-200 ppm	Lemah
5	>200 ppm	Sangat lemah

Sumber : Hidayat (2005)

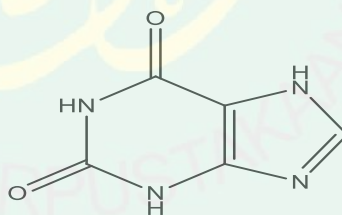
Menurut Liliyanti et al, (2015) menginformasikan bahwa uji aktivitas antioksidan dari ekstrak daun prasman menunjukkan ekstrak etanol 96% memiliki

nilai IC_{50} 122,77 mg/L, etanol 80% 162,56 mg/L, etanol 60% 253,95 mg/L dan vitamin C 8,973 mg/L.

2.6 Uji Fitokimia Rimpang Kunyit Putih dan Buah pare

2.6.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Ahmad, 1986). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinonila, dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson, 1995). Struktur dasar senyawa alkaloid ditunjukkan Gambar 2.7.



3,7-Dihydro-purine-2,6-dione
Gambar 2.7 Struktur Alkaloid

Menurut Harbone (1987) ekstrak yang positif alkaloid akan membentuk endapan jingga dengan reagen Dragendroff dan membentuk endapan putih dengan reagen meyer. Endapan yang terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid.

Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi Dragendroff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarekan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2007).

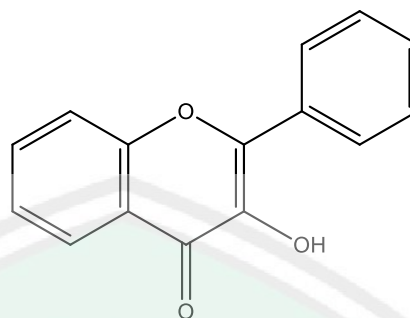
2.6.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C₃, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavon, flavonol, flavanon, kaekin, antosianidin, dan kalkon (Robinson, 1995).

Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa 1,3 diaril propana, senyawa isoflavonoid adalah senyawa 1,2 diaril propana, sedangkan senyawa-senyawa neoflavonoid adalah 1,1 diaril propana (Manito, 1981).

Struktur berbagai tipe atau golongan flavonoid bervariasi sesuai dengan kerangka dasar heterosiklik beroksigen yang dapat berupa gama piron, piran atau pirilium. Kecuali pada auron dan khalkon, siklisasi terjadi antara atom karbon didekat cincin benzen (B) dan satu gugus hidroksil cincin A. Kelas-kelas yang

berlainan di flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik oksigen dan juga hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan (Robinson, 1991)



3-hydroxy-2-phenylchromen-4-one

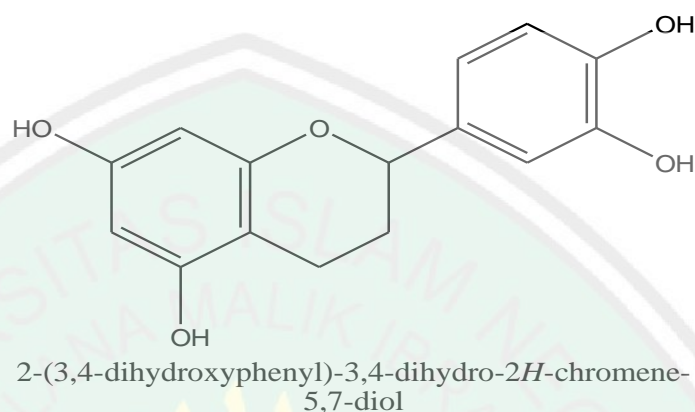
Gambar 2.8 Senyawa Flavonoid

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus $-OH$ dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga akan terbentuk ikatan hidrogen. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, serta penambahan serbuk Mg menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah jingga atau ungu (Hidayat, 2004).

2.6.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty, 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis

dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002). Tanin disebut juga asam galat, asam galotanin atau galotanat (Robinson, 1995).

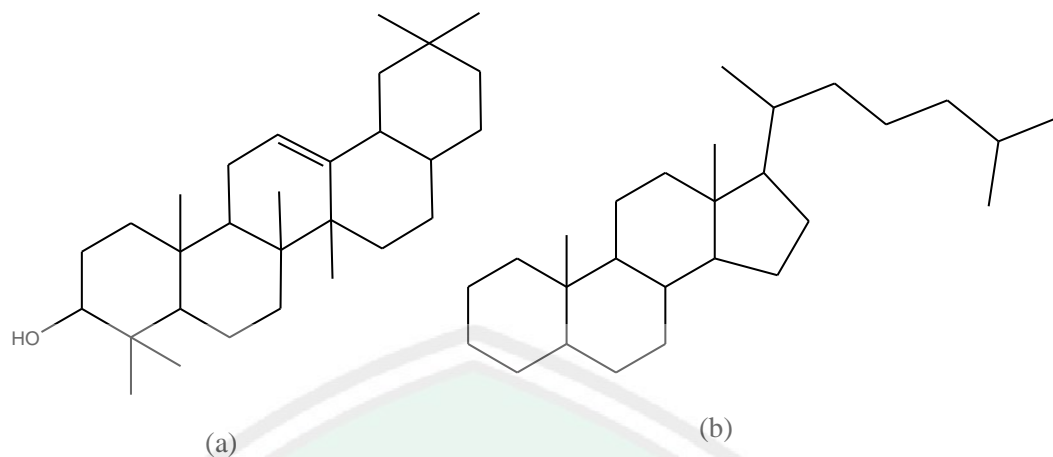


Gambar 2.9 Senyawa Tanin (Robinson, 1995)

Tanin apabila direaksikan dengan FeCl_3 akan membentuk senyawa kompleks dan berwarna hijau. Warna hijau ini menandakan adanya reaksi pembentukan Logam besi (Fe) dan tanin. Senyawa kompleks ini terbentuk karena adanya ikatan koordinasi yang terdiri dari ion logam dan non logam (Effendy, 2007).

2.6.4 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang artinya sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa yang aktif permukaan kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah. Sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh hidrolisis dari asam atau enzim (Robinson, 1995). Saponin larut dalam air tetapi tidak larut dalam eter (Aswin, 2008).



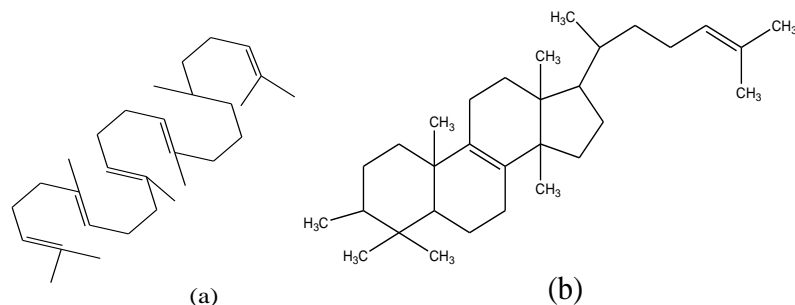
Gambar 2.10 (a) struktur saponin tipe triterpenoid dan (b) struktur saponin tipe steroid (Robinson, 1995).

Menurut Gunawan (2004), saponin mempunyai rasa pahit, dapat mengadsorpsi Ca dan Si dan membawanya dalam saluran pencernaan. Sebagian berupa glikosida yang dapat mengikat satu (*monodesmosida*), dua (*bidesmosida*) atau tiga (*tridesmosida*) rantai glukosa dan aglikonnya mengikat gugus fungsi COO, OH, dan -CH (Robinson, 1995)

Senyawa Saponin dapat pula diidentifikasi dari warna yang dihasilkannya dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Warna hijau menunjukkan saponin, steroid, warna merah, merah muda, atau ungu menunjukkan saponin triterpenoid. (Lutfillah, 2008) dalam penelitiannya menunjukkan adanya senyawa saponin dari ekstrak tanaman angret yang menggunakan pelarut etanol.

2.6.5 Steroid/ Triterpenoid

Steroid dan triterpenoid adalah senyawa yang mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Senyawa tersebut tidak berwarna, kristalin, yang mempunyai titik didih lebih tinggi, umumnya sulit untuk dikarakterisasi karena secara kimia tidak reaktif (Robinson, 1995) :



Gambar 2.11 (a) Skualena (Struktur dasar golongan senyawa triterpenoid) (Robinson, 1995) dan (b) Senyawa Lanosterol (senyawa triterpenoid tetrasiklik) (Mabrurroh, 2011)

2.7 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah salah satu teknik pemisahan yang menggunakan prinsip distribusi suatu senyawa pada fasa diam dan fasa gerak yang didasarkan pada perbedaan kepolaran. Teknik kromatografi dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dalam suatu campuran, serta dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Analisis kualitatif kromatografi lapis tipis didasarkan pada nilai R_f , dimana dua senyawa dapat dikatakan identik (sama) bila mempunyai nilai R_f yang sama. Analisis kuantitatif dilakukan dengan mengukur luas spot atau pengerokan secara langsung terhadap spot lalu penentuan kadar senyawa yang terdapat dalam spot tersebut dengan metode analisis lain (Gandjar dan Rohman, 2009).

Pemisahan suatu senyawa dengan KLT dapat dilakukan dengan menggunakan plat KLT yang biasanya terdapat lapisan tipis di atasnya. Lapisan tipis seperti plat silika gel F_{254} ditambahkan indikator fluoresensi yang dapat membantu kenampakan bercak berwarna pada lapisan tersebut. Indikator fluoresensi pada plat silika gel F_{254} merupakan senyawa yang mampu memancarkan sinar dengan lampu UV (Gritter, 1991). Kemudian, identifikasi dari

senyawa yang telah terpisah dapat dilakukan menggunakan nilai Rf. Harga Rf didasarkan pada perbandingan antara jarak senyawa yang terelusi dengan jarak pelarut yang mengelusi.

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak tempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh pelarut}} \dots\dots\dots 2.1$$

Penelitian Haniah (2013) telah menginformasikan pemisahan senyawa flavonoid dengan kloroform : metanol dengan menghasilkan 6 noda terpisah pada rentang nilai Rf 0,3- 0,8 cm. Noda tunggal Rf 0,35 pada eluen n-heksan-etil asetat (7:3) positif alkaloid dengan reagen Dragendroff membentuk perubahan warna dari coklat menjadi jingga dan terbentuk endapan coklat (Darminto, dkk., 2012). Hasil penelitian Fiisyatirodiyah (2015) melaporkan bahwa hasil uji saponin ditandai dengan noda jelas dan tidak berekor dengan nilai Rf 0,77. Senyawa triterpenoid memberikan 7 noda Rf 0,57; 0,61; 0,65; 0,68; 0,80; 0,85; 0,92 pada ekstrak etanol 80%, sebelum dan sesudah disemprot reagen Lieberman-Burchard memberikan warna ungu (Rohmaniyah, 2016).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.,) Dan Buah Pare (*Mormodica charantia* L.,) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazyl)”. dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2017 dan bertempat di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan diantaranya neraca analitik, kaca arloji, spatula, erlenmeyer, aluminium foil, beaker glass, pipet ukur, pipet volum, bola hisap, corong pisah, kertas saring, rotary evaporator, labu alas bulat, oven, corong pisah, cawan porselen, desikator, botol semprot, lemari asap, shaker, pompa vakum, corong buchner, tabung reaksi, rak tabung reaksi, penjepit kayu, bejana pengembang, hot plate, magnetic stirrer, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rimpang kunyit putih, buah pare, etanol 96%, HCl pekat, akuades, reagen Lieberman-Burchard, plat silika gel GF₂₅₄, DPPH, vitamin C, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, kloroform,

etil asetat, metanol 50%, logam Mg, reagen *Mayer*, FeCl_3 1%, n-heksana, metanol p.a., butanol, reagen *Dragendroff*, kertas saring whatman.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu ekstrak etanol 96% dan perbandingan komposisi berat ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare. Rimpang kunyit putih dan buah pare diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3×24 jam dalam kondisi *dishaker* 120 rpm kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare dicampurkan menjadi kombinasi dengan variasi perbandingan berat komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7).

Ekstrak etanol 96% kombinasi rimpang kunyit putih dan buah pare variasi perbandingan komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7) diuji fitokimia dengan reagen uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Kemudian diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (triplo) kemudian. Sampel tunggal hasil positif uji reagen fitokimia dan kombinasi rimpang kunyit putih dan buah pare yang memberikan aktivitas antioksidan paling tinggi diidentifikasi senyawa metabolit sekundernya menggunakan KLTA.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Ekstraksi senyawa aktif menggunakan metode maserasi
2. Hasil ekstrak etanol 96% rimpang kunyit putih dan buah pare dicampur dengan variasi berat komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7)

3. Penentuan sifat fitokimia
4. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH
5. Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan KLTA
6. Analisis data menggunakan SPSS 16

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Ekstraksi Maserasi menggunakan Etanol 96 % (Latifah, 2015)

Sampel rimpang kunyit putih dan buah pare masing-masing ditimbang sebanyak 200 gram kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol 96 % sebanyak 600 mL. Sampel diaduk dengan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) selama 24 jam. Larutan ekstrak disaring menggunakan corong *buchner*, residu yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak tiga kali dengan pelarut dan perlakuan yang sama. Ketiga filtrat yang diperoleh dicampur. Filtrat ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Ekstrak pekat yang diperoleh dialiri gas N₂, ditimbang dan dihitung rendemennya dengan Persamaan 3.1:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Kemudian dicampur hasil ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare dengan perbandingan komposisi berat (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7) dilakukan uji fitokimia selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dan identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak dengan KLTA.

3.5.2 Uji Fitokimia (Indrayani, dkk., 2006)

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak rimpang kunyit putih dan kombinasi keduanya (ekstrak rimpang

kunyit putih dan buah pare) dengan perbandingan berat komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7). Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak etanol 96% sampel tunggal dan kombinasi dilarutkan dalam masing-masing pelarutnya. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid.

3.5.2.1 Uji Alkaloid

Ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi 10.000 ppm diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 0,5 ml HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, tabung 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuningan (reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.2.2 Uji Flavonoid

Ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi 10.000 ppm diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi diuapkan sampai kering. dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Kemudian ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.2.3 Uji Tanin

Ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi 10.000 ppm diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Apabila larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin (Halimah, 2010).

3.5.2.4 Uji Saponin

Ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi 10.000 ppm diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1N, bila busa yang terbentuk bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.2.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi 10.000 ppm diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform dan ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya triterpenoid. Apabila hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid.

3.5.3 Uji Antioksidan dengan DPPH

3.5.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Rastuti dan Purwati, 2012)

Pelarut sampel yaitu etanol 96% diambil sebanyak 4,5 mL. Larutan ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C. Larutan dimasukkan dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu dimasukkan dalam kuvet, dicari λ_{maks} larutan pada rentang panjang gelombang 500-530 nm dengan interval 5 nm dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.3.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan (Suroso, 2007)

Ekstrak kombinasi hasil ekstraksi dibuat larutan ekstrak 100 ppm, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Larutan ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 ml, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C. Larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet, kemudian dicari waktu kestabilan pada rentangan waktu 5-120 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada Tahap 3.5.5.1.

3.5.3.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

- a. Absorbansi kontrol: Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol 96% sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tisu. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap 3.5.5.2, larutan dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap 3.5.5.1
- b. Sampel: Ekstrak sampel kombinasi pada variasi formulasi masing-masing dilarutkan dengan etanol 96% dengan konsentrasi 10, 25, 50, 75, 100 ppm (Djamil, dkk., 2012). Tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi, kemudian setiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 ml ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH dengan isolat yang dilarutkan pada konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut dilakukan triplo. Larutan diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap 3.5.5.2, larutan dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap 3.5.5.1.

Data absorbansi yang diperoleh dari setiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dari Persamaan 2.1 (Molyneux, 2003).

Persamaan aktivitas antioksidan :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidan selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai IC_{50} dengan memperoleh persamaan regresi.

- c. Perbandingan: Asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel pada konsentrasi 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm, akan tetapi diganti dengan asam askorbat (Vitamin C).

3.5.4 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dengan KLTA (Latifah, 2015)

Proses identifikasi senyawa aktif dengan metode KLTA dilakukan dengan beberapa persiapan diantaranya (Firdaus, 2016):

3.5.4.1 Persiapan Plat KLT

Plat KLT yang digunakan adalah plat silika GF₂₅₄ sebagai fasa diamnya, dengan ukuran 1 cm x 10 cm. Kemudian diberi penanda garis pada tepi bawah plat dengan jarak 1 cm sebagai posisi penotolan sampel, dan 1 cm pada tepi atas plat untuk menunjukkan batas dari proses elusi. Plat silika diaktivasi dengan cara di oven pada suhu 100 °C selama 10 menit.

3.5.4.2 Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Masing-masing eluen di masukkan dalam bejana (*great chamber*) dan dijenuhkan terlebih dahulu selama 1 jam dengan ditutup rapat. Penjenuhan ini berfungsi untuk menyetarakan tekanan uap dalam bagian bejana. Fase gerak yang digunakan untuk masing-masing golongan senyawa aktif adalah sebagai berikut :

- a. Golongan senyawa flavonoid menggunakan eluen campuran n-butanol : asam asetat : air (4:5:1) (Hayati, 2012 dan Sukadana, 2009), metanol : kloroform (7:3) (Haniah, 2013) Bercak noda diperiksa dengan lampu UV dengan disemprot AlCl_3 1% menghasilkan warna merah.
- b. Golongan senyawa alkaloid menggunakan eluen campuran etil asetat : metanol : air (3:2:1) (Marliana, 2005), kloroform : metanol (1:4) (Setiaji, 2009), kloroform : metanol (9:1) (Haniah, 2013). Bercak noda diperiksa dengan lampu UV dengan disemprot reagen dragendroff menghasilkan warna kuning-kemerahan.
- c. Golongan senyawa tanin menggunakan eluen campuran n-heksana : etil asetat (3:2) (Rohmaniyah, 2016), n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) (Mabruroh, 2015). Bercak noda diperiksa dengan lampu UV dengan disemprot FeCl_3 1% menghasilkan warna ungu.
- d. Golongan senyawa saponin menggunakan eluen campuran kloroform : metanol : air (3:1:1) (Rahayu, 2010), kloroform : aseton (4:1) (Ismiyah, 2013). Bercak noda diperiksa dengan lampu UV dengan Lieberman-buchard menghasilkan warna ungu.

- e. Golongan senyawa triterpenoid menggunakan eluen campuran n-heksana : etil asetat (1:4) (Rohmaniyah, 2016), n-heksana : etil asetat (7:3) (Zahro, 2011), kloroform : metanol (3:7) (Ismiyah, 2013).

3.5.4.3 Penotolan Sampel

Larutan ekstrak kombinasi dan ekstrak tunggal dibuat konsentrasi 10.000 ppm dan ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari tepi bawah plat. Penotolan dilakukan dengan pipa kapiler sebanyak 10 kali penotolan pada tempat yang sama, kemudian dikering anginkan (Hayati, dkk., 2010; Firdaus, 2016).

3.5.4.4 Proses Elusi

Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan masing-masing fasa gerak, dimana plat KLT dimasukkan dalam *great chamber* yang berisi fasa gerak yang telah jenuh, kemudian *great chamber* ditutup hingga larutan pengembang (eluen) mencapai batas 1 cm dari tepi atas plat. Plat KLT diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (Firdaus, 2016).

3.5.4.5 Identifikasi Noda

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Hayati, dkk., 2010). Noda yang tampak ditandai dengan pensil, kemudian disemprot dengan reagen pendeteksi noda sesuai dugaan senyawa metabolit sekunder dan diamati kembali dibawah sinar UV 254 dan 366. (Harborne, 1996; Hayati, dkk., 2010; Umarudin, dkk., 2012). Bentuk masing-masing noda diamati dan diukur jarak tempuhnya, kemudian dihitung nilai R_f masing-masing noda.

3.5.5 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan program SPSS 16:

1. Nilai IC_{50} : menentukan nilai IC_{50} diperoleh dari data nilai konsentrasi dan persen antioksidan kemudian dianalisis menggunakan Regresi-Probit.
2. Uji beda nyata: menentukan apakah terdapat perbedaan nilai IC_{50} yang dihasilkan pada hasil variasi kombinasi ekstrak rimpang kunyit putih : buah pare diperoleh dari data variasi kombinasi ekstrak dan nilai IC_{50} dianalisis menggunakan ragam varian (*One Way ANOVA*).



BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Maserasi

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi. Penggunaan metode maserasi ini bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif yang terdapat pada sampel (rimpang kunyit putih dan buah pare) dengan pelarut etanol 96%. Ekstraksi maserasi terjadi proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi rendah akan terdesak keluar. Pelarut etanol 96% yang memiliki konsentrasi lebih tinggi akan masuk ke dalam inti sel rimpang kunyit putih dan buah pare melewati dinding sel sehingga dinding sel dan membran sel terpecah. Hal ini mengakibatkan metabolit sekunder dalam sitoplasma yang ada di dalam sel akan keluar dan terlarut dalam pelarut etanol 96 % sehingga konsentrasi larutan di dalam sel lebih tinggi dari pada di luar sel dan terjadi proses difusi (Latifah, 2011).

Ekstraksi dilakukan 3 kali pengulangan untuk mendapatkan ekstrak yang lebih banyak. Proses penyaringan menggunakan corong *buchner* sehingga didapat residu dan filtrat. Filtrat hasil penyaringan dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Prinsip *rotary vacuum evaporator* yaitu proses pemisahan antara senyawa dan pelarutnya dengan adanya pemanasan dan penurunan tekanan pada sistem sehingga pelarut dapat menguap pada suhu yang lebih rendah titik didihnya (Sudjaji, 1988). Hasil ekstrak pekat rimpang kunyit putih dan buah pare ditunjukkan pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil berat dan randemen ekstrak etanol rimpang kunyit putih dan ekstrak buah pare

Sampel (Ekstrak)	Berat sampel (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Randemen (%) (b/b)	Warna Ekstrak Pekat
Rimpang Kunyit Putih	200	43,36	21	Coklat kekuningan
Buah Pare	200	30,26	15	Hijau kehitaman

Berdasarkan Tabel 4.1 ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare memiliki randemen berat ekstrak lebih besar daripada buah pare. Hal tersebut menunjukkan senyawa metabolit sekunder rimpang kunyit putih lebih banyak terekstrak daripada buah pare. Patonah (2014) dan Sakinah (2018) melaporkan kunyit putih dengan pelarut etanol 96 % menghasilkan randemen sebesar 15%, 27%. Sedangkan buah pare menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan randemen sebesar 19% dan 18% (Hasanah, 2018 dan Mukti, 2012).

4.2. Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif kandungan senyawa aktif pada sampel yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman untuk memberikan informasi skrining awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia tertentu (Marliyana, 2005). Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna dan busa dengan suatu pereaksi warna serta pemisahannya (Kristanti, 2008).

Penelitian ini pengujian golongan senyawa aktif dilakukan pada ekstrak kasar kunyit putih, buah pare dan kombinasi ekstrak kunyit putih dan buah pare dengan perbandingan variasi berat komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7). Hasil kandungan golongan senyawa aktif ekstrak tunggal kunyit putih, buah pare dan kombinasi ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 96%

Kandungan	Sampel Ekstrak etanol 96%						
	Kunyit Putih	Buah Pare	7:1 (A)	3:1 (B)	1:1 (C)	1:3 (D)	1:7 (E)
Senyawa metabolit sekunder							
Alkaloid:							
a. Mayer	+	+	+	+	+	+	+
b. dragendroff	+++	+	+++	++	+	++	+
Flavonoid	++	+++	++	+	++	++	+++
Tanin	++	++	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	+	+	++
Triterpenoid	+	+	+	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : +++ = sangat pekat atau banyak busa
 ++ = cukup pekat atau cukup banyak busa
 + = warna muda atau sedikit busa
 - = Tidak muncul warna atau busa

Berdasarkan hasil uji fitokimia dapat diketahui bahwa pada ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi mengandung senyawa aktif yang sama. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya ekstrak kunyit putih mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan triterpenoid (Ancy, 2017 dan Nahak, 2011) dan ekstrak pare mengandung saponin, alkaloid dan flavonoid, steroid dan triterpenoid (Mukti, 2007, Victoria, 2015 dan Yuda, 2013).

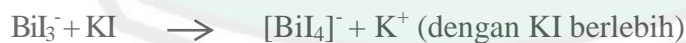
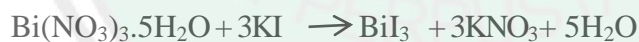
Hasil ekstrak kombinasi dapat diketahui bahwa semakin banyak perbandingan rimpang kunyit putih maka semakin banyak kandungan senyawa metabolit sekunder pada alkaloid. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menjelaskan bahwa rimpang kunyit putih memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid berupa melatonin (Dewi, 2010 dan Sriwahyuni, 2010). Semakin banyak perbandingan buah pare maka semakin banyak metabolit sekunder yang terkandung pada flavonoid. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya

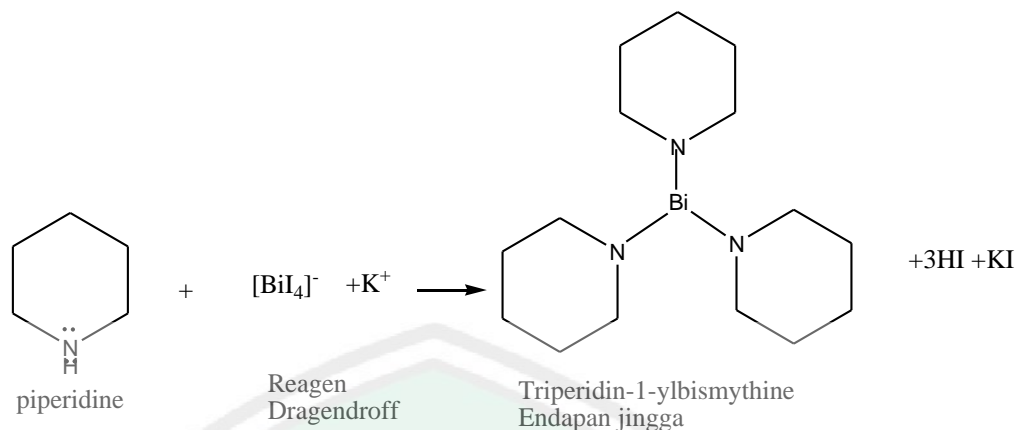
tentang penelitian ekstrak etanol buah pare yang mengandung flavonoid berupa polifenol (Yuda, 2013 dan Febriyanti, 2007).

4.2.1 Uji Alkaloid

Uji senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen Dragendoff dan pereaksi Mayer. Penambahan HCl karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam (Sriwahyuni, 2010). Uji menggunakan reagen Dragendroff ditandai dengan adanya perubahan warna ekstrak sampel dari kuning menjadi orange dengan endapan jingga, sedangkan pada uji Mayer didapatkan endapan berwarna kekuning-kuningan. Hasil dari Tabel 4.2 menunjukkan uji kedua reagen tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol 96% dikatakan positif pada sampel tunggal maupun sampel kombinasi. Hal ini sesuai dengan penelitian Himaja (2010) hasil uji fitokimia pada ekstrak kunyit putih mengandung senyawa alkaloid. Ekstrak etanol buah pare pada uji fitokimia mengandung senyawa alkaloid (Komala, 2005; Mukti, 2012 dan Victoria, 2015). Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen dragendroff dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2:

➤ Reaksi pembuatan reagen dragendroff:

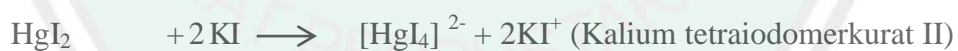


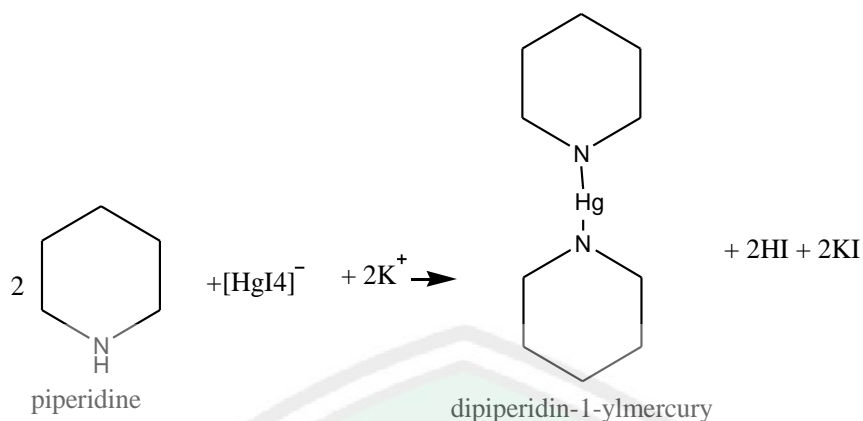


Gambar 4.1 Reaksi Dugaan antara Alkaloid dengan Pereaksi Dragendoff (Sumaryanto, 2009 dan Sriwahyuni, 2010)

Dugaan reaksi yang terjadi pada Gambar 4.1 menunjukkan reaksi senyawa alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam dari atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas (Marliana, 2005). Endapan bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kaliumtetraiodobismut. Endapan yang terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid (Marliana, 2005).

➤ Reagen pembuatan reagen mayer:





Kompleks logam dengan Alkaloid
(endapan kuning-kuningan)

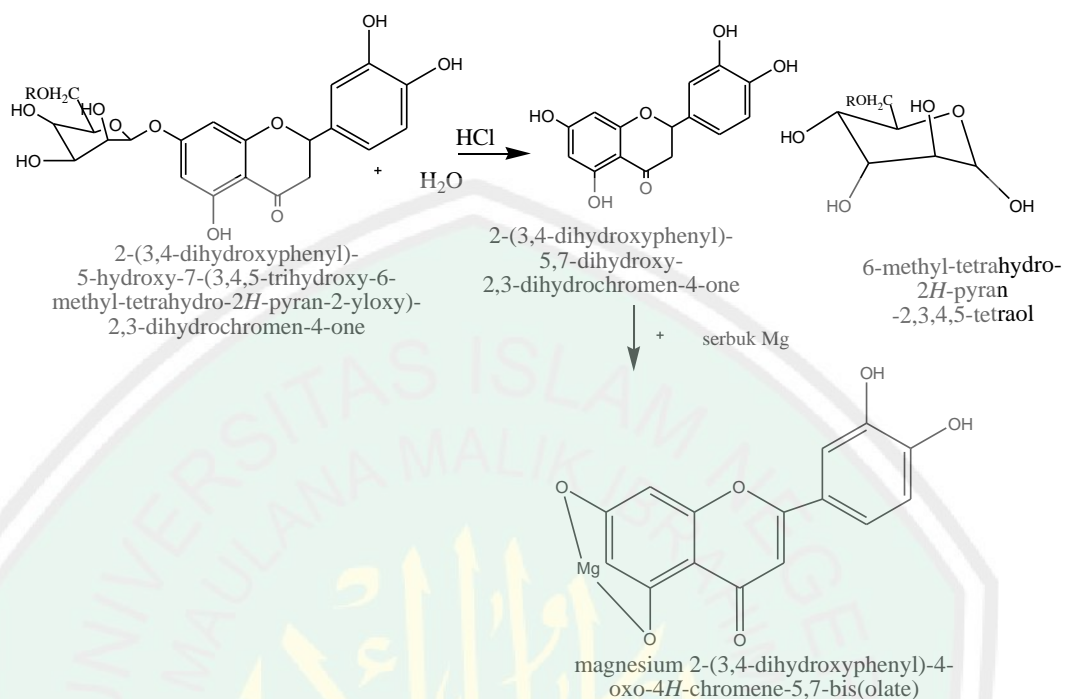
Gambar 4.2 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Meyer
(Lathifah,2008)

Reaksi yang terjadi pada Gambar 4.2 menunjukkan senyawa alkaloid bereaksi dengan pereaksi meyer. Atom N dari senyawa alkaoid menyumbangkan pasangan elektron bebas dan atom Hg sehingga membentuk senyawa kompleks yang mengandung atom N sebagai ligannya yang tersubstitusi oleh ligan iodin.

4.2.2 Uji Flavonoid

Uji golongan senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid yang ada pada ekstrak etanol kunyit putih dan buah pare. Uji serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan metanol 50% panas bertujuan untuk melarutkan ekstrak dan penambahan HCl pekat berfungsi untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu dengan cara menghidrolisis flavonoid O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya elektrofilik. Glikosida yang banyak dijumpai biasanya berupa gula diantaranya glukosa dan galaktosa. Reduksi dengan Mg dan HCl ini ditandai dengan adanya senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada golongan flavonoid yaitu

flavonol, flavanon, flavanonol, dan xanton (Robinson, 1985). Reaksi dugaan flavonoid dengan serbuk Mg dapat dilihat pada Gambar 4.3.

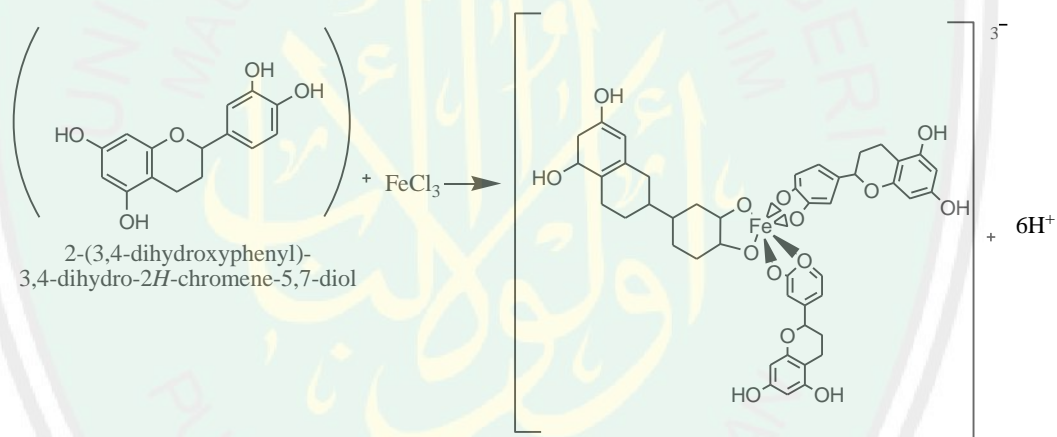


Gambar 4.3 Reaksi dugaan flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Sriwahyuni, 2010)

Berdasarkan Tabel 4.3 Uji flavonoid pada ekstrak etanol 96% sampel tunggal dan sampel kombinasi menunjukkan hasil yang positif yang ditandai dengan terbentuk warna jingga. Hal ini sesuai dengan penelitian Himaja (2010) dan Parel (2015) yang menyatakan bahwa ekstrak kunyit putih ketika diuji fitokimia mengandung flavonoid. Sedangkan buah pare pada penelitian sebelumnya jenis flavonoid positif mengandung senyawa glikosida 3-flavonol, fenol, polifenolik (Ellita 2014 dan Victoria, 2015).

4.2.3 Uji Tanin

Uji keberadaan tanin dilakukan dengan cara menambahkan reagen FeCl_3 1%. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna hijau kehitaman. Penambahan reagen FeCl_3 1% untuk menentukan adanya gugus fenol yang terdapat pada sampel. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan perubahan warna hijau kehitaman pada sampel, karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau logam dengan atom non logam yang bertindak sebagai atom donor atau molekul netral (Harbone, 1987 dan Effendy, 2007). Reaksi dugaan yang terjadi pada uji tanin dapat dilihat pada Gambar 4.4:



Gambar 4.4 Reaksi dugaan antara tanin dengan FeCl_3 (Marliana, 2015)

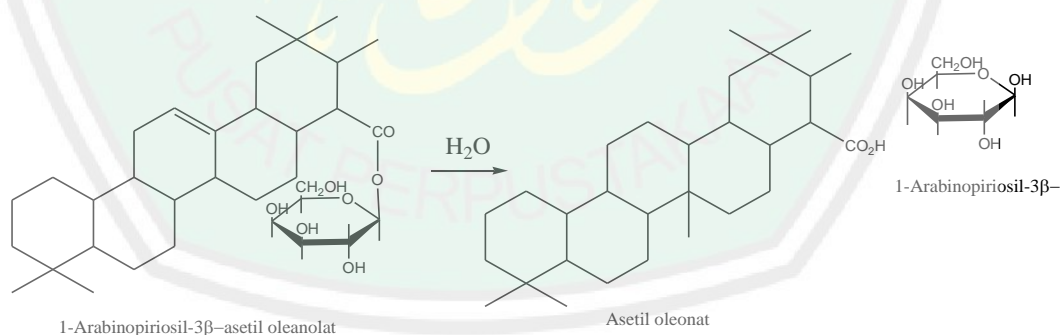
Berdasarkan dugaan reaksi pada Gambar 4.4 atom Fe merupakan atom logam dari senyawa kompleks, sebagai atom pusat yang menerima donor elektron, dan ligan yang dikoordinasikan pada atom pusat oleh ion dan molekul netral yang memiliki atom-atom donor. Sedangkan atom O dari senyawa tanin merupakan atom non logam yang menyumbangkan elektron pada atom pusat Fe. Atom O dari

ligan pada senyawa tanin memiliki suatu pasangan elektron bebas (PEB) sehingga dapat bertindak sebagai basa lewis yang mendonorkan pada atom pusat Fe. Fe^{3+} terhibridisasi menjadi d^2sp^2 dari senyawa kompleks yang terisi 6 pasangan elektron pasangan bebas atom O (Rohmaniyah, 2016).

4.2.4 Uji Saponin

Saponin merupakan zat yang memiliki senyawa aktif permukaan dan bersifat sabun. Pengujian saponin ini dilakukan dengan uji busa, setelah dilarutkan masing-masing ditambahkan dengan air ketika dikocok terbentuknya busa setinggi 1 cm menunjukkan adanya saponin pada ekstrak.

Busa yang terbentuk selama pengocokan menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (aglikon) (Rusdi, 1990). Adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air menyebabkan timbulnya busa (Kristianingsih, 2002). Dugaan reaksi senyawa saponin dengan air dapat dilihat pada Gambar 4.5:



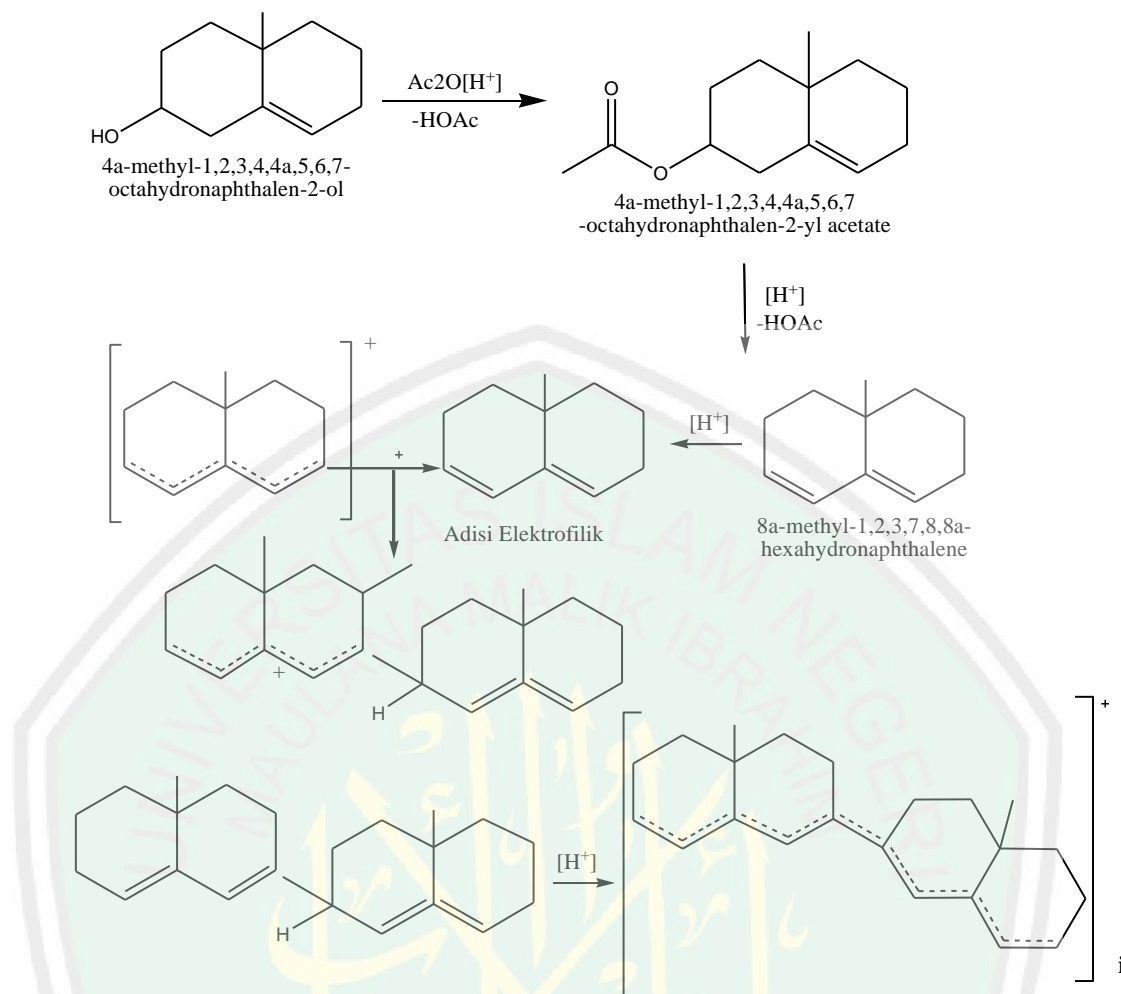
Gambar 4.5 Reaksi dugaan pembentukan busa pada uji saponin (wulandari, 2017)

Berdasarkan Gambar 4.5 busa dapat membentuk karena memiliki sifat seperti sabun untuk menurunkan tegangan permukaan air dan saponin

mengandung gugus hidrofilik dan hidrofobik (Kristanti, 2008). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya uji reagen saponin ekstrak etanol kunyit putih mengandung positif saponin (Ikpeama, dkk., 2015) dan ekstrak etanol *curcubitaceae* juga positif mengandung saponin (Victoria, 2015).

4.2.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Uji reagen Lieberman-burchard merupakan reagen yang spesifik digunakan untuk uji senyawa triterpenoid yang terdapat disampel. Pereaksi Lieberman-burchard merupakan campuran reagen campuran asam asetat anhidrat dengan asam sulfat (H_2SO_4) pekat. Golongan senyawa triterpenoid ini ditunjukkan dengan adanya reaksi terbentuknya cincin kecoklatan setelah ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (Robinson, 1995 dan Siadi, 2012). Sampel yang diduga ada senyawa triterpenoid ini ketika ditetesi oleh asam sulfat (H_2SO_4) pekat melalui dinding tabung reaksi maka asam asetat anhidrat akan bereaksi dengan asam sehingga atom C pada anhidrida membentuk karbokation. Karbokation yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus $-OH$ yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrat asetat. Berdasarkan hasil uji dibuktikan pada sampel tunggal ekstrak rimpang kunyit putih dan ekstrak buah pare ditandai dengan adanya endapan yang terbentuk cincin coklat sedangkan kombinasi berat komposisi antara ekstrak kunyit putih dan buah pare terbentuk warna violet yang menunjukkan adanya senyawa triterpenoid (Dewi, 2010). Reaksi yang terjadi pada uji senyawa triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 4.6:



Gambar 4.6 Dugaan reaksi triterpenoid dengan Liebermann-Burchard (Mabruroh, 2011)

Berdasarkan hasil pengamatan uji ekstrak etanol 96% kunyit putih, ekstrak etanol 96% buah pare menghasilkan warna cincin kecoklatan dan ekstrak etanol 96% kombinasi kunyit putih dan buah pare menghasilkan warna violet pada uji golongan senyawa triterpenoid. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tersebut menunjukkan senyawa triterpenoid. Senyawa triterpenoid cenderung bersifat polar. Hal ini diduga triterpenoid masih terikat pada glikosidanya sehingga ikut terekstrak dalam pelarut etanol yang bersifat polar (Sriwahyuni, 2010). Sedangkan

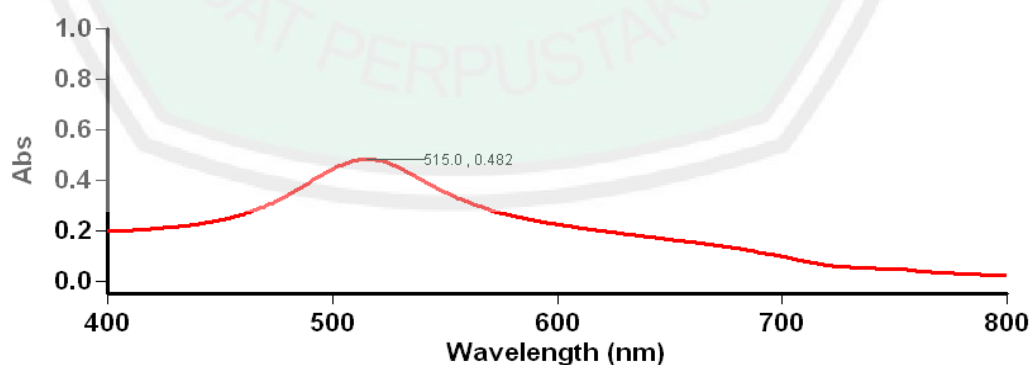
uji steroid pada sampel ini negatif karena uji ini menghasilkan warna cincin kecoklatan dan violet yang menunjukkan senyawa triterpenoid.

4.3 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan aktivitas antioksidan berfungsi untuk mengetahui panjang gelombang (λ) yang memiliki serapan tertinggi (Lailah, 2014). Menurut Gandjar R., (2009) Pengukuran sampel harus dilakukan, pada panjang gelombang maksimum agar kepekaanya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan. Selain itu, panjang gelombang maksimum untuk perubahan setiap satuan konsentrasi memiliki serapan yang paling besar, bentuk kurva absorbansi datar dan memenuhi hukum Lambert-beer.

Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm (Prakash, 2001). Hal ini sesuai dengan penelitian (Riva'i, 2013) yang menyatakan hasil ekstrak etanol 96% dengan DPPH memiliki panjang gelombang maksimum 515 nm. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Spektra larutan DPPH 0,2 mM

Berdasarkan spektra yang ditunjukkan pada Gambar 4.7 diperoleh hasil panjang gelombang maksimum 515,0 nm. Menurut Gandjar dan Rohman (2007) Perubahan warna ungu menjadi kuning disebabkan adanya atom N yang memiliki elektron tidak berpasangan menyebabkan terjadinya transisi $n-\sigma^*$. Keadaan dasar ini yang dinamakan keadaan yang lebih polar daripada keadaan tereksitasi (pergeseran hiprokromik), sehingga warna DPPH yang awalnya warna ungu menjadi warna DPPH-H kuning. Warna kuning mempunyai ciri khas panjang gelombang yang memiliki perbatasan panjang gelombang antara sinar ultraviolet dan sinar tampak.

4.3.2. Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Penentuan waktu kestabilan dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan sampel untuk mereduksi radikal DPPH dengan sempurna dan memiliki absorbansi yang stabil. Waktu kestabilan ditentukan dengan mengukur hubungan antar waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Semakin lama pengukuran ada kemungkinan senyawa terurai atau rusak sehingga intensitas warnanya menurun, akibatnya absorbansinya juga menurun (Mabruroh, 2011). Dan setiap sampel memiliki laju reaksi yang berbeda, oleh karena itu diindikasikan adanya reaktan yang telah mencapai tingkat reaksi yang sempurna (Molyneux, 2003). Hasil waktu kestabilan ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Waktu Kestabilan kombinasi kunyit putih dan buah pare

Sampel	Waktu Kestabilan (menit) Inkubasi 37 °C
a. Kombinasi ekstrak rimpang kunyit putih dan buah pare	
(7:1)	90-105
(3:1)	90-100
(1:1)	80-105
(1:3)	35-55
(1:7)	50-60
b. Asam Askorbat (kontrol positif)	
	35-70

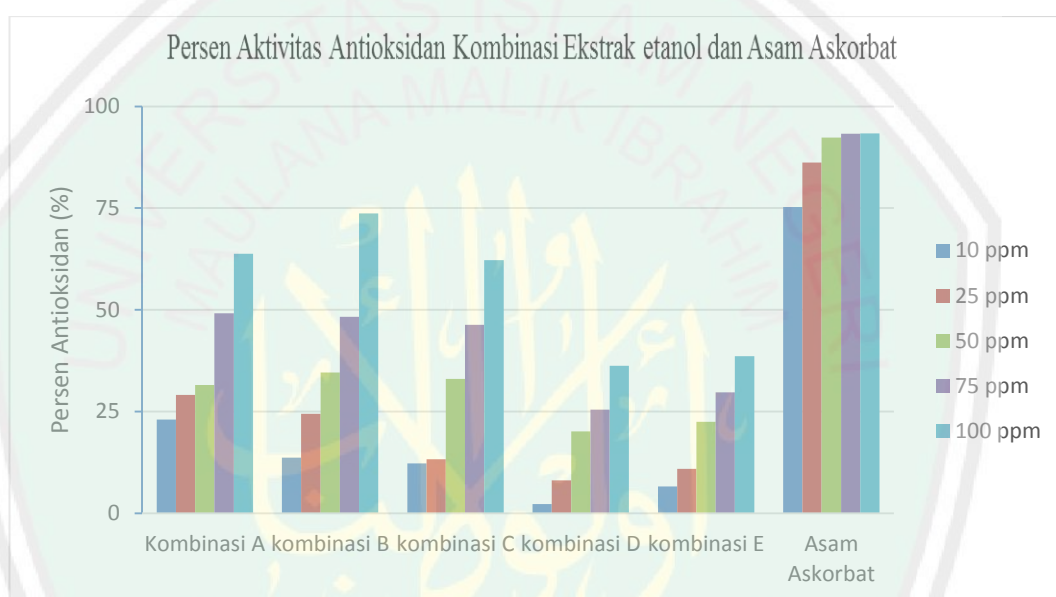
Berdasarkan hasil tersebut diperoleh hasil yang berbeda-beda karena masing-masing ekstrak campuran memiliki rentang waktu tertentu yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil dan memiliki laju reaksi yang berbeda. Pengujian antioksidan diinkubasi pada suhu 37°C karena suhu ini merupakan suhu yang sudah terkondisikan, Bariyyah (2013) Melakukan pengukuran waktu kestabilan DPPH yang diinkubasi pada suhu 37°C dan suhu ruang, didapatkan hasil pada suhu 37°C lebih optimal stabilnya ditandai dengan nilai absorbansi yang tidak jauh dari menit ke 30-55 menit. Selain itu, senyawa radikal DPPH tereduksi menjadi DPPH-H yang menunjukkan intensitas warna dari ungu berubah jingga sampai kuning. Selanjutnya hasil dari waktu kestabilan yang ditunjukkan pada Tabel 4.8 diukur dalam waktu kestabilannya.

4.3.3 Penentuan Antioksidan Pada Sampel

Pengujian antioksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum 515 nm selama waktu kestabilan dengan variasi konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm. Pada pengukuran potensi aktivitas antioksidan menggunakan larutan kontrol sebagai pembanding untuk menentukan

potensi sampel (Arindha, 2010). Selain itu, larutan kontrol berfungsi untuk mengetahui absorbansi radikal DPPH sebelum direduksi oleh sampel.

Uji aktivitas antioksidan pada sampel menggunakan DPPH. Prinsip metode ini adalah pengurangan intensitas warna DPPH akibat berkurangnya jumlah DPPH yang bereaksi dengan sampel menjadi DPPH-H (Molyneux, 2004). Hasil persen aktivitas antioksidan dari kombinasi kunyit putih dan buah pare serta pembandingan ditunjukkan pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Grafik persen aktivitas antioksidan dari sampel dan pembandingan

Gambar 4.8 menunjukkan bahwa penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan dinyatakan dengan nilai persen (%) aktivitas antioksidan (Lampiran 4.3). Semakin tinggi persen aktivitas antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen yang diberikan oleh senyawa aktif kepada radikal DPPH sehingga DPPH tereduksi oleh senyawa DPPH-H yang stabil (Rahayu, 2010). Perubahan warna yang terjadi dari ungu tua menjadi ungu muda menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada senyawa uji. Semakin banyak senyawa DPPH yang terstabilkan oleh senyawa metabolit sekunder yang ada pada

sampel maka akan semakin rendah intensitas warnanya atau memudar sehingga nilai absorbansinya juga semakin kecil, jika absorbansi rendah maka nilai % aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Mabrurroh, 2011).

Hasil persen aktivitas antioksidan dapat digunakan untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan dalam sampel yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkal radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka akan semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan (Mabrurroh, 2011).

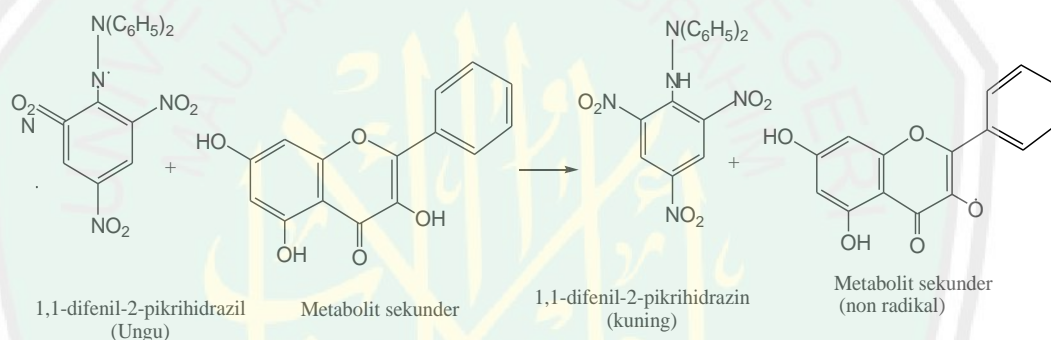
Tabel 4.4 Nilai IC_{50} sampel kombinasi ekstrak etanol dan Asam Askorbat

Kode	Sampel	IC_{50} (ppm)	Kategori
A	K:BP (7:1)	76,56 ^a	Kuat
B	K:BP (3:1)	68,50^a	Kuat
C	K:BP (1:1)	82,10 ^a	Kuat
D	K:BP (1:3)	171,74 ^b	Lemah
E	K:BP (1:7)	187,52 ^c	Lemah
Ct	Asam Askorbat	1,62	Sangat kuat

Ket : Notasi yang berbeda menunjukkan perlakuan berbeda

Berdasarkan Tabel 4.4 kekuatan masing-masing aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang kunyit putih dan buah pare dapat digolongkan menjadi kombinasi A,B,C tergolong antioksidan kuat; kombinasi D dan E tergolong lemah. Sedangkan asam askorbat sebagai sampel kontrol positif tergolong antioksidan kuat (Lathifah, 2015). Hasil kekuatan antioksidan pada sampel kombinasi memiliki nilai IC_{50} lebih rendah daripada asam askorbat sebagai sampel kontrol positif. Hal tersebut dapat dikatakan bahwa sampel kombinasi A,B,C dan Ct (Asam Askorbat) aktif sebagai antikanker dan kombinasi D,E dikatakan kategori sedang sebagai antikanker karena >100 ppm (Milyasari, 2011).

Hasil formulasi perbandingan kombinasi kunyit putih dan buah pare memberikan pengaruh terhadap hasil kekuatan aktivitas antioksidan. Hal ini dikarenakan jumlah kandungan pada senyawa metabolit sekunder setiap sampel berbeda. Penelitian (Annisa, J., 2013) melaporkan uji antioksidan pada ekstrak tunggal kunyit putih menunjukkan aktivitas kuat dengan nilai IC_{50} 73,74 ppm. Sedangkan pada buah pare nilai IC_{50} 1255,17 ppm menunjukkan aktivitas yang sangat lemah (Liqolbinisa, dkk. 2016). Dugaan reaksi antara DPPH dan senyawa metabolit sekunder pada Gambar 4.9.



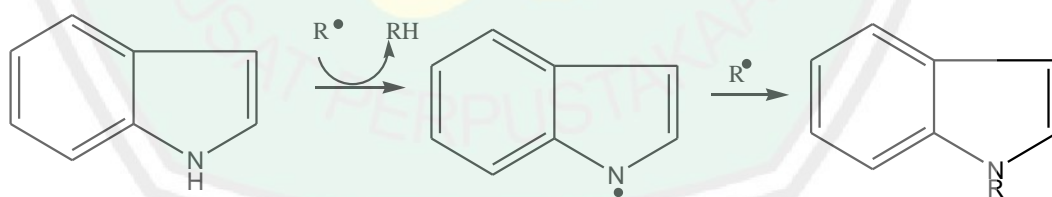
Gambar 4.9 Reaksi DPPH dengan metabolit sekunder (Amic, 2003)

Gambar 4.9 senyawa metabolit sekunder sebagai antiradikal setelah bereaksi dengan DPPH sebagai radikal akan berubah menjadi senyawa metabolit sekunder (non-radikal) dan DPPH (non-radikal). Adanya atom hidrogen dari gugus hidroksi pada metabolit sekunder dapat didonorkan pada senyawa radikal DPPH sehingga senyawa tersebut dapat terstabilkan (Lathifah, 2015).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid menurut Giorgio P., (2000) dapat dibagi menjadi 2 yaitu flavonoid dapat menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida dan mengikat logam kelumit yang terlibat dalam reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Flavonoid memadamkan

radikal menggunakan potensial reduksi yang rendah dengan jalan mereduksi radikal superoksida, peroksil, alkoksil, dan hidroksil. Radikal aroksil saling bereaksi menghasilkan quinon yang stabil. Stabilitasnya aroksil ditentukan oleh adanya delokalisasi elektron pada 2,3-ikatan ganda terkonjugasi dengan 4-okso. Mekanisme lain yang dijalankan flavonoid dalam memadamkan radikal adalah dengan cara menyediakan sisi pengikatan untuk radikal – radikal tersebut. Sisi ini adalah gugus katekol pada cincin B yang merupakan donor elektron yang baik (Redha, 2010). Menurut Mariana (2013) dan Sakinah (2018) genus *curcuma* golongan flavonoid diantaranya flavonol, kampferol dan lutein memiliki ikatan rangkap yang terkonjugasi mampu menstabilkan elektron radikal sehingga memberikan aktivitas antioksidan tinggi.

Senyawa lain, alkaloid dapat bekerja sebagai antioksidan terutama indol memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama. Dugaan reaksi radikal bebas oleh alkaloid pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Peredaman radikal bebas oleh Alkaloid (Yuhernita dan Juniarti, 2011)

Beberapa senyawa alkaloid lain yang bersifat antioksidan adalah quinolon, kafein yang bertindak sebagai peredam hidroksil dan melatonin yang berperan

penting menjaga sel dari pengaruh radiasi dan toksisitas obat-obatan (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Senyawa lain dalam ekstrak adalah saponin. Senyawa saponin untuk menghentikan superoksida melalui pembentukan intermediet hidroperoksida, sehingga mencegah kerusakan biomolekul oleh radikal bebas (Yoshiki, dkk. 1998). Senyawa tanin ada dua yang bertindak cukup baik sebagai antioksidan yaitu golongan tanin galat seperti gallotanin dan ellagotanin. Aktivitas antioksidatif berkaitan dengan struktur kimianya. Naiknya gugus galloil, berat molekul, dan struktur ortohidroksil yang memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas (Okuda, dkk., 1992 dan Yokozawa, dkk., 1998).

Triterpenoid bertindak sebagai antioksidan karena memiliki rantai ikatan rangkap terkonjugasi sehingga elektronnya dapat disumbangkan untuk menstabilkan muatan molekul reaktif seperti famili cucurbitaceae jenis triterpenoid diantaranya isoprenoid, momordichin, dan saponin gypsogenin (Capelli, 2007; Gao, T.Z., dkk., 2014, dan Sakinah, 2018)

Uji statistika diperoleh dari hasil nilai IC_{50} untuk mengetahui hasil yang signifikan dari variasi kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit putih dan buah pare dengan menggunakan analisis *One Way* ANOVA. Jika nilai *Sig* < 0,05 maka dapat dilakukan uji *Post Hoc* dengan diperlukan menggunakan uji lanjutan (*Tukey*) untuk mengetahui tingkat signifikan dari kombinasi ekstrak.

Berdasarkan hasil uji *One Way* ANOVA didapat hasil yang berbeda nyata dengan nilai *Sig* < 0,05 yaitu 0,001 (Lampiran 6.1) sedangkan hasil ANOVA dengan nilai *Sig* < 0,05 yaitu 0,000 (Lampiran 6.2). Hal tersebut dapat dinyatakan

semua variasi kombinasi ekstrak etanol memiliki hasil yang berbeda nyata dan adanya pengaruh terhadap hasil nilai IC_{50} . Uji lanjutan selanjutnya hasil dari uji *Tukey* (Lampiran 6.3) dan *subsets* (Lampiran 6.4) menunjukkan bahwa variasi kombinasi B menghasilkan nilai yang signifikan yang ditunjukkan dengan notasi a. Menurut (Mabrurroh, 2011) semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Sehingga, hasil uji aktivitas pada kombinasi B mampu memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi sehingga ada pengaruh yang signifikan.

4.4 Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan KLTA

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan distribusinya terhadap dua fase yaitu fase gerak berupa eluen dan fase diam berupa adsorben yang memiliki kepolaran berbeda. Fase diam yang digunakan yaitu plat silika GF₂₅₄ yang memiliki sifat polar sehingga untuk dapat memisahkan senyawa metabolit sekunder, fase gerak yang digunakan harus memiliki nilai kepolaran yang lebih tinggi atau lebih non polar dari fase diam (Harbone, 1987).

Uji KLTA merupakan uji lanjutan untuk memperkuat pemisahan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh hasil positif dari sampel tunggal uji fitokimia pada Tabel 4.2 dan hasil terbaik aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit putih dan buah pare 3:1 (kombinasi B). Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan beberapa variasi eluen. Variasi tersebut digunakan untuk mewakili kepolaran setiap senyawa yang dipisahkan yaitu polar,

semipolar dan non polar. Hasil pemisahan senyawa di hitung dengan nilai Rf (*retardation factor*) antara 0-1 yang menunjukkan kecepatan elusi dalam spot atau noda dari suatu senyawa sehingga setiap sifat dari eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa akan menghasilkan nilai Rf yang berbeda. Suatu senyawa yang sama ketika strukturnya lebih bersifat polar maka nilai Rf akan semakin kecil sehingga akan terdistribusi pada fase diamnya (polar) dan noda (spot) yang dihasilkan harus terpisah jelas dan tidak berekor (Effendy, 2010 dan Harbone, 1987).

4.4.1 Alkaloid

Pemisahan senyawa alkaloid menggunakan variasi eluen dapat dilihat pada Tabel 4.5 Reagen yang digunakan untuk memastikan adanya senyawa alkaloid adalah reagen dragendroff. Dan diamati pada lampu UV 366 nm dan 254 nm. Hasil terbaik dari pemisahan senyawa alkaloid adalah eluen kloroform : metanol (9:1). Kloroform memiliki nilai konstanta dielektrik yang lebih tinggi daripada metanol sehingga campuran eluen tersebut berdistribusi pada fase gerak yang bersifat non polar. Pemisahan menggunakan eluen tersebut lebih karena menghasilkan noda jelas yang banyak dan tidak berekor.

Tabel 4.5 Data nilai Rf senyawa alkaloid ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B

No	Sampel	etil asetat : metanol : air (3:2:1)	kloroform : metanol (1:4)	klorofom : metanol (9:1)	Warna Noda Tanpa Pereaksi	Warna Noda Dengan Pereaksi	Dugaan senyawa Alkaloid	
1.	Rimpang	0,99	0,88	0,97	Biru	Biru	-	
	Kunyit		0,84	0,57	Merah	Merah	+	
	Putih		0,79		Merah	Merah	+	
2.	Buah Pare	0,95	0,86	0,83	Biru	Biru	-	
		0,91	0,76	0,72	Biru	Biru	-	
		0,93	0,71	0,54	Merah	Merah	+	
3.	Kombinasi	0,32	0,58	0,32	Hijau	Hijau	-	
	Rimpang		0,68	0,68	Hijau	Hijau	-	
	kunyit		0,85	0,85	0,85	Hijau	Hijau	-
	Putih : Buah Pare (3:1)		0,94	0,81	0,94	Merah	Merah	+

Berdasarkan Tabel 4.5 menunjukkan hasil positif alkaloid ditandai dengan noda berwarna merah dengan Rf kisaran 0,58-0,88 cm pada sampel tunggal maupun kombinasi. Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Haniah (2013) menunjukkan eluen kloroform:metanol (9:1) menghasilkan Rf 0,56-0,97 cm dengan noda yang terbentuk 5. senyawa alkaloid dengan Rf 0,62 cm ditandai dengan noda berwarna merah jingga. Penelitian Marlina (2005) menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada Rf 0,9 dengan warna kuning muda.

4.4.2 Flavonoid

Pemisahan senyawa flavonoid pada sampel ekstrak tunggal dan kombinasi menggunakan beberapa eluen yaitu eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan metanol : kloroform (7:3). Penggunaan reagen penyemprom $AlCl_3$ untuk memastikan adanya senyawa flavonoid pada noda yang terbentuk. Dan diamati dengan lampu UV 366 nm dan 254 nm. Hasil pengamatan diperoleh Rf pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Data nilai Rf senyawa flavonoid ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B

No.	Sampel	Kloroform : metanol : (7:3)	Butanol : Asam Asetat : Air (4:5:1)	Warna Noda Tanpa Pereaksi	Warna Noda Dengan Pereaksi	Dugaan senyawa Flavonoid
1.	Rimpang	0,78	0,89	Biru	Biru	-
	kunyit	0,84	0,9	Merah	Merah	+
	putih	0,91		Biru	Biru	-
				Hijau	Hijau	-
2.	Buah Pare		0,92	Merah	Merah	+
		0,95	0,94	Biru	Biru	-
		0,87	0,86	Hijau	Hijau	-
		0,84	0,78	Merah	Merah	+
		0,8 0,59				
3.	Kombinasi Rimpang kunyit Putih : Buah Pare (3:1)	0,66	0,90	Biru	Biru	-
		0,79	0,61	Hijau	Hijau	-
		0,87		Biru	Biru	-
		0,90	0,86	Merah	Merah	+

Berdasarkan Tabel 4.6 dapat diketahui setelah disemprot dengan $AlCl_3$ senyawa flavonoid ditandai dengan hasil positif yang berwarna merah (Pratama, 2015). Pemisahan ini diperoleh hasil pemisahan yang terbaik dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (7:3) dengan menghasilkan noda pada sampel tunggal rimpang kunyit, buah pare dan kombinasi B yaitu 3,5,4 spot (noda) menunjukkan nilai Rf rentang antara 0,59-0,95 cm. Penelitian Haniah (2013) telah menginformasikan pemisahan senyawa flavonoid dengan kloroform : metanol dengan menghasilkan 6 noda terpisah pada rentang nilai Rf 0,3- 0,8 cm.

Campuran kloroform (7:3) memiliki kepolaran yang berbeda. kloroform bersifat non polar memiliki nilai konstantan dielektrik 4,81, sedangkan Metanol bersifat polar dengan konstanta dielektrik (33,62). Sehingga dapat dikatakan kepolaran kloroform lebih besar daripada metanol jika dilihat dari nilai konstanta

dielektrik, maka campuran eluen tersebut cenderung bersifat non polar. Noda yang dihasilkan cenderung terdistribusi pada fase gerak. Sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terpisah cenderung non polar.

4.4.3 Tanin

Pemisahan senyawa dengan variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.7 Reagen penyemprot untuk memastikan adanya senyawa tanin adalah FeCl_3 1% dan diamati pada lampu UV 366 nm yang ditandai dengan noda berwarna ungu. Eluen ini mampu menghasilkan hasil yang terbaik adalah n-heksana : etil asetat (3:2). N-heksana memiliki nilai konstanta dielektrik (1,88) yang bersifat non polar dan etil asetat memiliki nilai konstanta dielektrik (6,02) yang bersifat semi polar, sehingga campuran eluen berdistribusi pada fase gerak yang bersifat non polar.

Tabel 4.7 Data nilai Rf senyawa tanin ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B

No	Sampel	n-heksana :Etil asetat (3:2)	n-butanol :asetat:air (4:1:5)	Warna Noda Tanpa Pereaksi	Warna Noda Dengan Pereaksi	Dugaan senyawa Saponin
1.	Rimpang	0,51	0,45	Ungu	Ungu	+
	Kunyit	0,58	0,89	Hijau	Hijau	-
	Putih	0,78		Hijau	Hijau	-
		0,93		Ungu	Ungu	+
2.	Buah Pare	0,11	0,41	Merah	Merah	-
		0,4	0,73	Hijau	Hijau	-
		0,94		Merah	Merah	-
				Ungu	Ungu	+
3.	Kombinasi	0,31	0,61	Merah	Merah	-
	Rimpang	0,51	0,84	Ungu	Ungu	+
	Kunyit	0,92	0,9	Ungu	Ungu	+
	Putih :	0,97		Hijau	Hijau	-
	Buah Pare (3:1)					

Tabel 4.7 menunjukkan bahwa pada eluen n-heksana :etil asetat (3:2) sampel tunggal maupun kombinasi hasil positif senyawa saponin diketahui memiliki 4,3,4 noda yang berwarna ungu dengan Rf rentang 0,31-0,97. Penelitian Rohmaniyah (2011) melaporkan bahwa uji pemisahan senyawa tanin menghasilkan nilai Rf 0,63-0,97 dengan noda yang berwarna ungu.

4.4.4 Saponin

Pemisahan senyawa dengan variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.8 Penggunaan reagen penyemprot untuk memastikan adanya senyawa saponin adalah reagen Liberman-Buchard dan diamati pada lampu UV 366 nm dan 254 nm yang ditandai dengan warna ungu.

Tabel 4.8 Data nilai Rf senyawa saponin ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B

No	Sampel	Kloroform: aseton (4:1)	Kloro- form: metanol: air (3:1:1)	Warna Noda Tanpa Pereaksi	Warna Noda Dengan Pereaksi	Dugaan senyawa Saponin
1.	Rimpang	0,88	0,93	Ungu	Ungu	+
	Kunyit	0,4	0,81	Ungu	Ungu	+
	Putih	0,1	0,87	Biru	Biru	-
2.	Buah Pare	0,54	0,54	Merah	Merah	-
		0,98	0,64	Ungu	Ungu	+
		0,45	0,45	Biru	Biru	-
3.	Kombinasi Rimpang Kunyit Putih : Buah Pare (3:1)	0,31		Ungu	Ungu	-
		0,13		Merah	Merah	-
		0,47	0,79	Biru	Biru	-
		0,51	0,81	Biru	Hijau	-
		0,78	0,9	Hijau	Hijau	-
			0,94	Biru	Biru	-
		0,28		Merah	Merah	+
0,65		Ungu	Ungu			

Berdasarkan Tabel 4.8 menunjukkan bahwa eluen yang terbaik pada sampel tunggal maupun sampel kombinasi B yaitu eluen kloroform : aseton (4:1)

dengan noda yang terbentuk 3,4,5 dengan kemampuan distribusi yang hampir sama yaitu terdistribusi pada eluen kloroform : aseton (4:1) dengan nilai Rf. Hal tersebut dikarenakan campuran eluen kloroform : aseton (4:1) memiliki kepolaran yang berbeda. Aseton bersifat polar dengan konstanta dielektrik yang lebih besar (20,7) dan kloroform bersifat non polar (4,81) sehingga cenderung bersifat semi polar. Hasil penelitian Fiisyatirodiyah (2015) melaporkan bahwa hasil uji saponin ditandai dengan noda jelas dan tidak berekor dengan nilai Rf 0,77.

4.4.5 Triterpenoid

Pemisahan senyawa triterpenoid terbaik pada ekstrak tunggal rimpang kunyit putih, buah pare dan ekstrak kombinasi B yaitu menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (7:3) (Lampiran 5.4.5.4.1). Eluen ini mampu menghasilkan masing-masing 4, 1, 5 pada UV 366 nm. Noda yang diduga triterpenoid yaitu berwarna ungu di bawah lampu UV 366 nm dan 254 nm (Fiisyatirodiyah, dkk., 2015). Campuran eluen n-heksan : etil asetat (7:3) memiliki kepolaran yang berbeda. n-heksan bersifat non polar dengan konstanta dielektrik (1,89) dan etil asetat bersifat semi polar (6,02), maka campuran eluen cenderung bersifat semi polar.

Tabel 4.9 Data nilai Rf senyawa triterpenoid ekstrak sampel tunggal dan sampel kombinasi B

No	Sampel	n-heksana :etil asetat (1:4)	n-heksana :etil asetat (7:3)	Kloroform : metanol (3:7)	Warna Noda Tanpa Perekasi	Warna Noda Dengan Perekasi	Dugaan senyawa Triterpenoid
1.	Rimpang	0,95	0,87	0,90	Merah	Merah	-
	Kunyit	0,87	0,78		Hijau	Hijau	-
	Putih	0,77	0,34		Biru	Biru	+
					Ungu	Ungu	+
2.	Buah Pare	0,97	0,88	0,86	Merah	Merah	-
		0,86		0,72	Merah	Merah	-
		0,54		0,67	Biru	Ungu	+
		0,31		0,64	Biru	Ungu	+
				0,57	Biru	Ungu	+
3.	Kombinasi Rimpang kunyit Putih : Buah Pare (3:1)	0,81	0,13	0,49	Hijau	Hijau	-
				0,65	Merah	Merah	-
	0,94	0,81	0,65	Ungu	Ungu	+	
	0,79	0,92	0,96	Biru	Biru	+	
				Biru	Biru	+	
				Biru	Ungu	+	
0,9	0,88	0,71	Hijau	Hijau	-		

Berdasarkan Tabel 4.9 senyawa triterpenoid memiliki nilai yang terdistribusi pada eluen n-heksana : etil asetat (7:3) dengan nilai Rf rentang 0,13-0,96. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Fiisyatirodiyah (2015) uji senyawa triterpenoid dengan eluen n-heksana : etil asetat (7:3) dengan nilai Rf rentang 0,19-0,76. Dan penelitian Rohmaniah (2011) menghasilkan noda berwarna ungu tua dengan memiliki 4 noda yang terbentuk.

Berdasarkan hasil identifikasi dengan uji fitokimia kombinasi ekstrak rimpang kunyit putih : Buah Pare (3:1) mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder tersebut diperkuat dengan hasil KLTA ditunjukkan dengan adanya warna noda yang spesifik dengan variasi eluen terbaik yaitu metanol :

kloroform (4:1); metanol : kloroform (7:3); n-heksan : etil asetat (3:2); kloroform : aseton (4:1); n-heksan : etil asetat (7:3).

4.5 Pemanfaatan Tumbuhan Rimpang Kunyit putih dan Buah Pare dalam Prekspektif Islam

Allah menciptakan segala sesuatu yang ada dimuka bumi ini tidak sia-sia. Semua isi dan ciptaan Allah mempunyai banyak manfaat dan dapat diekplorasi, jika manusia mau berfikir. Ciptaan Allah diantaranya adalah tumbuh-tumbuhan baik yang berada di darat ataupun laut. Menurut Imam Al-Ghazali, jalan untuk mengenal Allah adalah mendekatkan diri kepada Allah SWT dan merenungkan hikmah yang terkandung dalam ciptaan-Nya (Mustafa, 1993). Allah SWT memberikan gelar Ulul albab terhadap orang yang mau berfikir melalui aspek mata akal (fikir dan nadzar), observasi (pengamatan), dan intropeksi (muhasabah, perenungan dan penghayatan) (Syafuruddin, 2003). Allah berfirman dalam surat ali 'Imron (3):190;

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتَلَفِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“Artinya: Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal” (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (QS. Al 'Imron : 190-191).

Salah satu cara berfikir terhadap ciptaan Allah SWT dengan memanfaatkan dan merenungkan ciptaan-Nya diantaranya adalah mengetahui dari

Al Qur'an yang telah mengabarkan tentang fakta-fakta ilmiah yang kemudian ditemukan dan dibuktikan oleh eksperimen dengan perantara manusia. Al Qur'an merupakan landasan dalam memahami kekuasaan Allah SWT sebagaimana telah dilakukan penelitian ekstrak rimpang kunyit dan buah pare yang menggunakan pelarut etanol 96%, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami. Selain itu, pengujian senyawa antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrihydrazil*) telah menambah nilai fungsi ilmiah dari kombinasi ramuan herbal rimpang kunyit putih dan buah pare tersebut.

Hasil penelitian ini didapat kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam campuran rimpang kunyit putih dan buah pare dan menghasilkan potensi sebagai sumber antioksidan alami. Firman Allah SWT dalam Qs. Al Furqon (25);2,

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

“Artinya : yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan (Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan ia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (Q.S. Al Furqon : 2)”.

Berdasarkan ayat di atas dapat diketahui bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT memiliki kapasitas/ukuran masing-masing begitu pula dengan hasil yang diperoleh oleh campuran ekstrak kunyit putih dan buah pare dengan variasi berat komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7) memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ antioksidan campuran kunyit putih dan buah pare dengan variasi perbandingan berat komposisi (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7) adalah 76,56 ppm; 68,50 ppm; 82,10

ppm; 171,74 ppm; 187,52 ppm dan yang mempunyai nilai aktivitas paling baik adalah variasi perbandingan 3:1 dengan nilai $IC_{50} = 68,50$ ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa variasi perbandingan sampel ekstrak kunyit putih dan buah pare (3:1) mampu menangkai terjadinya radikal bebas yang memicu adanya kanker.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak kombinasi rimpang kunyit putih dan buah pare dengan perbandingan (7:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:7) menghasilkan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan sampel kombinasi diperoleh nilai IC_{50} yaitu 76,56; 68,50; 82,10; 171,74; 187,52 ppm
2. Hasil pemisahan menggunakan KLTA senyawa metabolit sekunder pada sampel kombinasi terbaik antioksidan yaitu kombinasi rimpang kunyit dan buah pare dengan perbandingan 3:1 diduga mengandung senyawa aktif golongan flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan sampel tunggal sebagai pembanding terhadap sampel kombinasi.
2. Perlu dilakukan uji KLTP untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi, R. 2010. Flavonoid:Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis.,<http://repository.polnep.ac.id.>, diakses 18 Maret 2018.
- Achmad, S.A. 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta : Penerbit kartanika.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella Tyhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. *Jurnal Bioscientiae*. 1(1): 36.
- Amrullah, A. 2009. Budidaya Herbal Kunyit (*Curcuma Dumistica Val*),. <http://Andiamrullah.blogspot.com>. Diakses pada tanggal 12 Januari 2017.
- Al Amin, M., Azam, G., dan Noman, S., 2014. Phytochemical Screening and Antipyretic Effect of *Curcuma zedoaria* Rosc. (Zingiberaceae) Rhizome. *Journal of Pharmaceutical research*. 4(5): 569-575.
- Amic, D., Davidovic-Amic, D., Besio, D., dan Trinajstic N. 2003. Structure Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoids. *Croatia Chemical Acta*; 76:55 – 61.
- Ancy, A.R., Antony, S., dan Salini, P., 2017. Phytochemical screening and comparative study of antimicrobial activity of leaves and rhizomes of turmeric varieties. *Journal of Research in Plant*. 1(10): 7-11.
- Andayani, R.Y., Lisawati, dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, kadar Fenolat Total, Dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum L*). *Jurnal Sains dan Teknologi farmasi*. 13(1): 1-9.
- Annisa, J., 2013. Kadar Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Lima Aksesori Tanaman Kunyit (*Curcuma Domestica*) Pada Lokasi Budidaya Kecamatan Nagrak, Sukabumi. *Skripsi*. Bogor: IPB
- Apriyadi, F., Hadisoewignyo, L., dan Hermanu, L. 2012. Optimization tablet of leaves extract of bitter melon. *Jurnal Sains Med*. 4(2): 68-73.
- Arazia, T., Paul, L.H., dan Philip, L.H. 2002. Production of Antiviral and Antitumor Proteins MAP30 and GAP31 in Cucurbits Using the Plant Virus Vector ZYMV-AGII. *Biochem Biophys Res Comm*. 292(2): 441-448.
- Aryanti, D., Nurhayanti, T. dan Nur Jannah. 2011. Kajian awal potensi Ekstrak spons sebagai Antioksidan . *Jurnal kelautan Nasional*. Vol 2. Edisi Januari. Hal 43-51. Bandung : Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan.
- Asih, A., Gunawan, G., dan Desi, H. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak n-Heksana Daun Kepuh (*Sterculia feotida L.*) Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas. *Jurnal Kimia*. 4(2): 135-140.

- Attamimi, F. 2001. Tiga Senyawa Baru Cassane Furano Diterpene Hasil Isolasi dari Daging Biji Bagore (*Caesalpinia crista*, L.) Asal Sulawesi Selatan Sebagai Bahan Dasar Obat Antimalaria. *Jurnal kimia*. Vol. 2(1): 12– 24.
- Badan POM. 2004. Mengenal beberapa tanaman yang digunakan masyarakat sebagai antidiabetik untuk membantu menurunkan kadar gula dalam darah. *Info POM*. 5(3): 6.
- Barriyah, S.K., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Kasar Aktif Mikro Alga *Chollera sp.*, Hasil Kultivasi Dalam Medium Ekstrak tauge. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Malang.
- Basch, E., Gabardi, S., dan Ulbricht, C. 2008. Bitter melon (*Momordica charantia*): a review of efficacy and safety. *Am J Health Syst Pharm* 60 (4): 356-359.
- Bayala, B., Bassole, I.M., Gnoula, C., dan Morel, L. 2014. Anticancer activity of essential oils and their chemical components a review. 4(6): 591-607
- Bimakra, M., Rahman, R.A, Taip, F.S., Ganjlo., A., Shalleh, L.M., Selamet, J., Hamid A., dan Zaidul, I.S.M., 2010. Comparisson of Different Extraction metods For The Extraction Of Major Bioactive Flavonoid Compound From Spearment (*Mentha Speacata L.*) leaves. *Journal Food and Bioproducts Processing* : Malaysia.
- Burke, A., Smyth, E., and Fitzgerald, G.A., 2006. Analgesic antipyretic agents, Pharmacotherapy of gout. In: Brunton, L.L., Lazo, J.S., and Parker, K. L., Goodman and Gilman. *Pharmacological Bases of Therapeutics*. 11th Edn., Mc Graw Co. Inco. New York, 671-715.
- Capelli, B., dan G. Cisewsky. 2007. Natural Antaxhantin: Kingdom of the carathonoid. *Nature* 78:7.
- Coppen, P.P. 1983. The use of antioxidant: J.C.Allen dan R.J Hamilton. *Racidity in Foods*. Applied Science Publishers, London.
- Dalimartha, S. 2004. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Desmiaty, Y., Ratih, H., Dewi, M.A., dan Agustin, R. 2008. Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria bicolor Hassk.*) Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia. *Ortocarpus*. 8:106-109.
- Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat & Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2001. Cara Pembuatan Simplisia. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan.

- Dewi, S., Rahman, F., Handayani, N., dan Rahmawati, R. 2010. Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus Conoideus Lam*). *Jurnal Kimia*. Lampung: Universitas Lampung.
- Djamal, R. 1990. Kimia bahan alam. Padang : Universitas Andalas.
- Effendy. 2007. Perspektif Baru Kimia Koordinasi *Jilid I*. Malang: Bayu Media Publishing.
- Elfira, 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada enam tanaman. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ellita, A. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia L.*) Sebagai Larvasida Terhadap *Aedes aegypti*. Universitas Kristen Maranatha
- Farooqi, M.I.H. 2005. Terapi Herbal Cara Islam: Manfaat Tumbuhan Menurut Al-qur'an dan sunnah Nabi. *Diterjemahkan oleh Ahmad Y. Sumantho*, Jakarta : Penerbit Hikmah (PT. Mizan Publika). Guenther, E. 1987. Minyak Atsiri Jilid 1. Jakarta : UI Press.
- Faten, M., Abou, E., and Emad, A.S. 2008. Antioxidant activity of Extract and Semi-Purified Fraction Of Marine Red MacroAlga, *Graciralia, Verrucosa*, Australian *Journal of Basic and Applied Sciences*. Kairo. Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Cairo Univercity. 3 (4): 317-318.
- Fauzia, M. 1999. Temu-temuan dan Empon-emponan. Budidaya dan Manfaatnya. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 77-80.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1999. Kimia Organik, Jilid dua. Jakarta: Erlangga.
- Fiisyatirodiyah, Abdul H., Roihatul M., dan Elok K.H. 2015. Potensi Terapi Tunggal Antimalaria Ekstrak Etanol Akar Widuri (*Calotropis gigantea*) secara In Vivo. *Jurnal Farma Sains*. Vol.1, No.1.
- Fongmoon, D., Lalitwongsa, S., dan Keyoonwong, W. 2013. Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Bitter Melon (*Momordica charantia L.*) Extract Cultured in Lampang Thailand. *NU Science Journal*. 10(2):18 - 25
- Gandjar, I.R., dan Rohman, A. 2009. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gao, T.Z., Hai, Z.L., Jian, C.C., Jie, Q.L., Lin Z., Ming, H.Q. Yuan, Y.D., Zhi, R.Z. 2014. Cucurbitane-type triterpenoids from the stems and leaves of *Momordica charantia*. *Journal Fitoterapia*, 95: 75-82.
- Giorgio, P. 2000. Flavonoid as Antioxidant. *Journal National Product*, 63:1035-1045.
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawamita. Bandung: Penerbit ITB.

- Grover, J., K., dan Yadav, S., P. 2004. Pharmacological and Potential Uses of *Momordica Charantia*. A review *J Ethnopharmacol*, 93(1), 123-132.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants action in vitro* Di dalam, B.J.F. Hudson, Editor. *Food Antioxidant*. London:Elsevier Applied Science.
- Guenther, E. 2006. Minyak Atsiri. Jilid I. Diterjemahkan oleh S. Ketaren. Jakarta: UI-Press.
- Gunawan, I.W.G., Gedebawa, I.G.A. dan Sustrisnayanti N. L. 2004. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri Linn*). *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Bali : Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana ,Bukit Jimbaran.
- Hafid, A.F. 2003. Aktifitas Antiradikal Bebas DPPH Fraksi Metanol *Fragrara auricula* dan *Fagrarea ceilania* *Majalah Farmasi Airlangga*. III (I); 34-39.
- Hagerman, A.E. 2002. Condensed Tannin Structural Chemistry. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, Oxford, OH 45056.
- Hanani, E, Mun'im, A, dan Sekarini. R., 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spons Callyspongia* Sp dari Kepulauan Seribu. Depok : Departemen Farmasi, FMIPA-UI.
- Handayani, 2006. Identifikasi senyawa antioksidan dalam *Spons Callyspongia* sp dari kepulauan Seribu. Depok : Departemen Farmasi, FMIPA-UI.
- Handayani, D., Suyuti N., dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epidioksi Sterol dan *Spons Laut Petrosia Nigrans*, asal Sumatera Barat *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi- II*. Lampung: Universitas Lampung.
- Handayani, W. 2008. Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan sistem Hematologi. Jakarta: Salemba Medika.
- Haniah. 2013. Identifikasi dan Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus L.*) sebagai Antimalaria secara In Vivo pada Mencit. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hapsah, A., dan Hasanah, Y. 2011. Budidaya Tanaman Obat dan Rempah. Medan: USU Press.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia Jilid II. Penerbit ITB : Bandung.
- Hasanah, A.N., Nazaruddin F., Febrina E., dan Zuhrotu, A. 2015. Analisis Kandungan Minyak Atsiri dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*). *Jurnal Matematika dan Sains*. 147 – 153.

- Hasanah, U. 2018. Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Rimpang Kunyit Putih dan Buah Pare Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang : Uin Malang
- Hayati, E.K. 2008. *Diktat Petunjuk Praktikum Kimia Bahan Alam*. Malang: UIN Press.
- Helrich, K. 1984. *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Herlina, T., Syarifuddin, dan Zalinari U. 2012. Senyawa Aktif Antikanker Payudara dan Antimalaria dari Tumbuhan Dadap Ayam (*Erythrina Variegata*) secara in vitro. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. Vol. 19 No. 1: 30 – 36.
- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Hidayat, M.B.C. 2004. Identifikasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi Dari Propolis Lebah Madu Apis mellifera dan Uji Aktifitasnya sebagai Antijamur candida Albinana. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Hidayat, B., 2005. Penggunaan Antioksidan Pada Anak. *Artikel Kimia*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Himaja M., dan Indrakusuma , M. 2010. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Rhizome Part of *Curcuma zedoaria*. *IJRAP* 1(2): 414 - 417.
- Husna. 2011. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Rhizome Part of *Curcuma zedoaria*. *IJRAP* 1(2) 414 - 417.
- I'anatun, N.A. 2011. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Bosenbergia pandurata (Roxb.) Schlecht*) Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Ikpeama, Ahamefula, Onwuka G.I., dan Nwankwo, C. 2014. Nutritional Composition of Tumeric (*Curcuma longa*) and Its Antimicrobial Properties. *International Journal of Scientific and Engineering Research*. Vol.5. ISSN: 2229-5518.
- Indrayani, L.H., dan L., Sihasale. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis L., Vahl*) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina Leach*. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Salatiga : Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana.
- Kamtekar, S., Keer, V., dan Pati, V. 2014. Estimation of Phenolic content, Flavonoid content, Antioxidant and Alpha amylase Inhibitory Activity of

Marketed Polyherbal Formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 4(09) :061-065

- Kholifah, N. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pare (*Momordica Charantia L.*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Edwasillia Tarda* Penyebab Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan. *Skripsi*. Malang : UIN Malang
- Komala, O., Rosyanti R., dan Muztabadihardja. 2012. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*).
- Kristanti, Alfinda, dan Novi. 2008. "Buku Ajar Fitokimia". Surabaya : Airlangga University Press.
- Kumar, E.K., Ramesh, A., Kasiviswanath, R. 2005. Hipoglikemic and antihiperglikemik Effect of Gamelina asiatica Linn. In normal and in Alloxan Induced Diabetics Rat Andhra L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Bogor : Universitas Pakuan.
- Kusmiyati, Nurfina, A., dan Sri, H. 2011. Isolasi dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga Val.*) Fraksi Etil Asetat. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol.1, No.2: 1 – 10.
- Kusriani, R.H., dan Shofia, A.Z. 2015. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Senyawa Fenolik Total Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah dan Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galanga L.*). *Jurnal Kesehatan*. 2: 2477 - 2354.
- Kusrini, D., dan E. Fachriyah. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Bimbang (*Anredera cardifolia*), (*Tenore*), Stenis). *Jurnal Chemistry* Volume 1. Jurusan Kimia FSM Universitas Diponegoro : Semarang.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. 2003. Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di Hutan Tropis Gunung Arjuno.
- Liqolbinnisa, S.H., Rismawati E., Syafnir, L., 2016. Pengujian Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Buah Pare (*Momordica Caharantia L.*). *Jurnal Farmasi* . 673-677. Bandung : Universitas islam Bandung
- Lailah, N., 2014. Uji Aktifitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat. *Skripsi*. Malang : UIN Malang.
- Lathifah, 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang kencur (*Kaemferia Galanga L.*) menggunakan Metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil*). *Skripsi*. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maliki Malang.

- Lathifah, Q.A., 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Avverho belimbi*) dengan Variasi pelarut. *Skripsi*. Malang : Uin Malang.
- Liliyanti, M., Revolta M., dan Citraningtyas. 2015. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium Triplinerve* Vahl.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4: 2302 – 2493.
- Lufillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata Beauv*) serta Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri secara in Vitro. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Malang : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Mabruroh, I.A. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.) dan Identifikasinya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Madhavi, D.L., Despande, S.S., and Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Prespective*. New York:Marcel Dekker Inc.
- Maflikha. 2014. *Budidaya Tanaman Obat dan Rempah*. Medan : USU Press.
- Manito, P. 1981. *Biosintesis Produk Alami*. Semarang. Cetakan Pertama IKIP.
- Mariana, L., Yayuk, A., dan Erin, R. G. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). *Jurnal*. Universitas Mataram.
- Marliana, E. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientific*. Vol. 11, No.1. ISSN 1412-498X.
- Mau, JL., 2003. Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil From Curcuma Zedoaria. *Food Chem*. 82: 583–91.
- Molyneux, P. 2004. *The Use the stable Free Radical Diphenilpicrylhidrazil (DPPH) for Estimating antioxidant Activity*. Songklamarin Journal of science Technology, 26 (2): 211-219.
- Mukti, D., 2012. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica Charantia* L) Terhadap *Streptococcus Mutans* Penyebab Karies Gigi. *Skripsi*. Bogor: Universitas Pakutan.
- Mustafa. 1993. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi*. Semarang : PT Toha Karya.
- Nahak, G., dan R.K. Sahu, 2011. Evaluation of Antioxidant Activity and Ethanolic Extract Of Five Curcuma Spesies. *Journal of Pharmacy*, 12(2) : 243-248

- Naid, T., Muflihunna, A., Madi, M. 2012. Analisis Kadar β karoten pada buah pare (*Momordica charantia* L.) secara spektrofotometri UV - VIS. *Jurnal Farmasi dan Farmakologi* 16 (3): 129.
- Nihlati, I.A., Rohman A., dan Hertiani T. 2007. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci [*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechth] dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1- Difenil-2-pikrihidrazil). *Jurnal Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*.
- Ningsih, E.M., Fasya, A.G., Adi, T.K., dan Hanapi, A. 2015. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid pada Fraksi n-heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*. *Skripsi tidak diterbitkan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Nirwana, A. 2005. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*dendrophloe pentandra* l. miq.).
- Nishizawa, A. 2005. "Non Reductive Scavenging of 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH) by Peroxyradical:A Useful Method for quantitative Analisis Peroxyradical". *Chem Pharm bull.*53, (6),714-6.
- Nri, S., dan M.S., Putri, 2004. White Turmeric (*Curcuma Zedoaria*): ITS Chemical Substance And The Pharmacological Benefits. Faculty of Medicine : Lampung University
- Nugroho, N,A. 2013. Manfaat dan Pengembangan Kunyit. PT Trubus Agriwidya, Ungaran.
- Okuda, T., Yoshida, T., and Hatano, T., 1992, Chemical and Biological Activity of Tannin in Medical Plants Research, Edited by Wagner and Dorman, Academic Press.
- Patonah, Ari, Y., dan Cica N. 2014. Aktivitas Antihipertriglisieridemia Ekstrak Kunyit putih (*Curcuma longa* L.) dan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) serta Kombinasinya pada Hewan Hipertriglisieridemia. *Jurnal Farmasi Galenika*. Vol. 1 No. 2. ISSN: 2406-9299.
- Plantamor, S. 2008. Plantamor Situs Dunia Tumbuhan, Informasi Spesies-Pala. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=883>. Diakses 17 Januari 2017.
- Plantus, A. 2008. Anekaplantasia. Plants clipping infomations from all over media in Indonesia.
- Pradana, F. 2014. Identifikasi Flavoonoid Dengan Pereaksi Geser Dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* Tens. Steenis) Terhadap kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Aloksan. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant activity. *Journal of analytical Chemistry*. Medallion Laboratories: Analytical Pogress. Vol 10, No. 2.

- Rahayu, D.S., Dewi, K., dan Emy F., 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari ekstrak etanol Ketapang (*Terminalia catappa L.*) dengan metode DPPH. *Skripsi*. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Rahimah, E.S., dan J. Afghani. 2013. Karakterisasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolat Dari Fraksi Etil Asetat Daun Matoa (*Pometia pinnata j.r.forst & g.forst*). Universitas Tanjungpura : Program Studi Kimia Fakultas MIPA; 2(2) : 84-89.
- Rasdiana, A. 2011. Penggunaan antioksidan Pada Anak.. Surabaya : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Rita, W., Suirta, I., dan Ali Sabikin. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (*Momordica charantiaL.*). *Jurnal Kimia* 2 (1): 5
- Rivai, H., Ernita W. S., dan Rusdi. 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total dan Daya Antioksidan dari 88 Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. Vol.18, No.1. ISSN 1410-0177.
- Rukmana, R. 1997. Budi Daya Pare. Yogyakarta : Kainius.
- Rusdi, 1990. Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat. Padang : Pusat Penelitian Universitas Andalas
- Robinson, T. 1995. Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan tinggi. Diterjemahkan oleh prof. dr.Kokasih padmawinata. Bandung : ITB.
- Rohman, A., dan A. Riyano. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*), *J. Agritech*. Vol, 25 No 3; 131-136.
- Rohmaniyah, M. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumput Bambu (*Lophatherum gracile B.*) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Sakinah, F. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak etanol kombinasi Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma Longa*) Dan Rumput Bambu (*Lophatherum gracile Brogn*) menggunakan Metode DPPH serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Uin Malang
- Sangi, A. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. Manado : Biologi Fakultas MIPA Unsrat.
- Santoso, A.F.,B.Q. Guevera, A.M. Mascardo, and C.Q. Estrada.1978. Phytochemical, Microbiological and Pharmacological, Screening of Medical Plants. Manila : Research Center University of Santo Thomas.
- Saraswaty, V. 2013. Aktivitas Antioksidan dari Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Manggis, Daun Sirsak, dan Daun Sirih Merah. Bandung : Kampus LIPI.

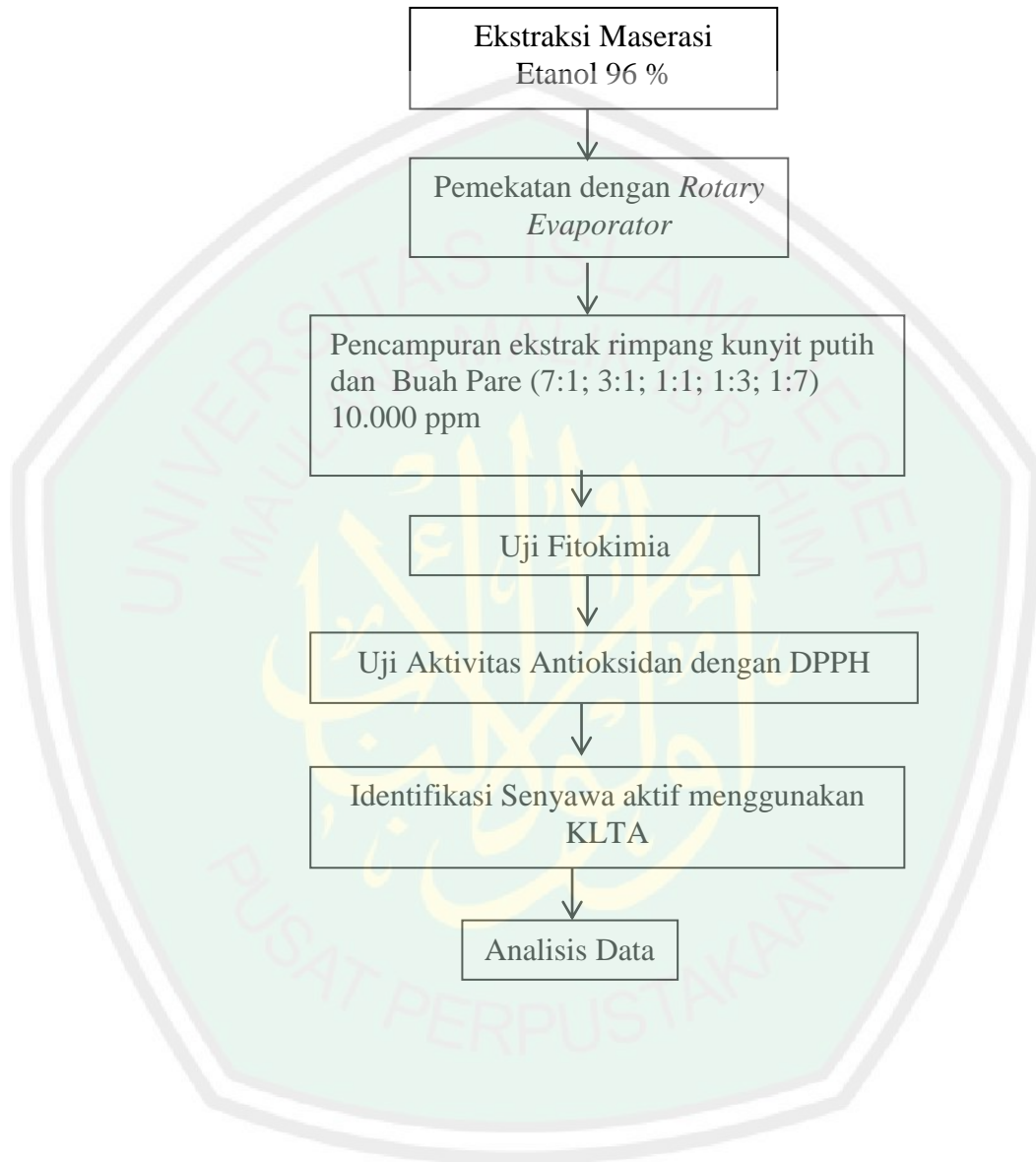
- Sastrahadmidjojo H, 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Sastrahadmidjojo H, 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta : UGM.
- Sax, G. 1980. Principles of Educational Measurement and Evaluation (second ed.). California: Wadsworth Publishing
- Seidel, V. 2008. Initial and Bulk Extraction. In: Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., editors. *Natural Products Isolation*. 2nd.
- Shihab, M.Q. 2002. Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Vol.8. Jakarta : Lentera Hati.
- Silalahi, J. 2006. Antioksidan dalam Diet dan Karsinogenesis. *Cermin Dunia Kedokteran*. 153: 42-47.
- Sirait, M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung : Penerbit ITB.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Achalypha Indicha* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp* (*Artemia salina* Leach). *Skripsi. Diterbitkan*. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa bahan dan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Liberty.
- Sudarno, R., dan Subekti S. 2012. Uji Sensitifitas Sari Buah Pare (*Momordica charantia* L) Pada Bakteri Edwardsiellatarda dengan Metode Difusi Kertas Cakram Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(1):109-111.
- Sudjadi, 1988. Metode Pemisahan. Yogyakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Sulastry, T., dan Kurniawati, N. 2010. Isolasi Steroid dari Ekstrak Metanol Daun Bluntas (*Plucea Indica* L). *Jurnal Chemica*. 11. (1): 52-56.
- Sumany, R., Djamil R., dan Afrilia I.S. 2012. Kadar kurkumin dan potensi antioksidan ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*(Berg) Roscoe.) temu magga (*Curcuma manga* Val et Zyp.) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Jurnal Fakultas Farmasi Universitas Pancasila*. 3 (1),1-8.
- Shukla, V.K.S., Wanasundar, P.K.J.P.D., dan Shahidi, F. 1997. "Antioxidant from Oilseeds". In: F. Shahidi. (Ed), *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*. Illionis: AOCS Press.
- Susilawati, dan Hermansyah. 2014. Uji Potensi Antiplasmodium Ekstrak Buah Pare (*Momordica Charantia* L.) Terhadap *Plasmodium Falcifarum*. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Jurusan Kimia FMIPA. Vol. 9. (1).

- Syafruddin, 2003. Peringatan Bagi Ulul Albab (*Reminders for People of Understanding*). Diterjemahkan oleh Ismail Umar dan Titie Wibipriatno. Madinah: Imtiaz Ahamd corp.
- Syaifuddin, A. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*alternanthera amoena* voss.) Segar dan Rebus dengan Metode DPPH (1,1 -diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Skripsi*. Semarang:Pendidikan Biologi FITK UIN Walisongo.
- Syu, W.J., Shen, C.C., Don, M.J., Ou J.C., Lee, G.H., dan Sun, C.M. 2013. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*. *J Nat Prod*. 1998;61(12):1531-4.
- Tensiska, 2008. Serat Makanan. Bandung : Jurusan Teknologi Industri Pangan. Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjajaran.
- Tholkappiyavathi, K., Neyanila, S.K., Muthamizh Selvan, K., Yoganandam Prakash G., dan V. Gopal. 2013. A Concise Review On *Curcuma Zedoaria*. *Inter. J. of Phytotherapy*. Dept. of Pharmacognosy Research Institute of Health Sciences, Gorimedu, Puducherry (3):1-4.
- Tuan PA. 2011. Carotenoid content and expression of phytoene synthase and phytoene desaturase genes in bitter melon (*Momordica charantia* L.). *Food Chem* 126: 322-330.
- Underwood, A. L., Day, R.A., 1998, Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi keenam diterjemahkan oleh Iis Sopyan. Jakarta : Erlangga.
- Victoria D., 2015. Phytochemical screening and bioactivity of *Momordica charantia* L. 7(5):970-975
- Voight, 1985. Buku Pelajaran Teknologi farmasi. Diterjemahkan oleh Soedani Noeroono Soewindi, Apt. Yogyakarta: Liberty.
- Widjaya, 2003. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta : Gramedia
- Winarsi, 2007. Antioksidan Alami dan Radikal bebas. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Widyanto, M., Suharto, dan Biworo. 2015. Potensi Jus Buah Pare (*Momordica Charantia* L.) Sebagai Penghambat Hemoglobin Terглиkasi In Vitro. 2(11):141-147
- Widyasanti, A. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia Sinensis*) dengan Metode DPPH (1,1 difenil -2- pikrilhidrazil). *Jurnal Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjan*, (2): 9 – 15.
- Widyastuti, N. 2014. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. *Skripsi*. Bogor : Sarjana Sains Institut Pertanian.

- Yokozawa, Chen C.P., Dong E., Tanaka T., Nonaka G.I., dan Nishioka I. 1988. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem Pharmacol.* 56(2):213-22.
- Yoshiki, Y., Kudo, and Okobo K. 1998. Relationship between Chemical Structure and Biological Activities of Triterpenoid Saponin from Soybean (Review) . *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 62: 2291- 2292.
- Yullia, M. 2003. Cara Bijak Menaklukkan Kanker. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Yuana, R. 2009. Siktat Petunjuk Praktikum Kimia Bahan Alam. Bandung : ITB
- Yuda, I., Anthara, M.S. dan Dharmayudha, A. 2013. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*L) dan Pengaruhnya terhadap Penurunan Kadar Glukosa darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novvergicus*) yang diinduksi Aloksan. *Buletin Veteriner Udayana.* 5 (2) : 87-95.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sain.* Vol. 15, No. 1.
- Yuliani, D. 2010. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jinten Hitam. *Skripsi.* Tidak diterbitkan. Malang : UIN Maliki Malang.
- Zahrah, A., 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Buah Pare (Belut). Jakarta : UNJ. *Jurnal Ilmiah Jurusan Kimia.* 2: 11-14
- Zheng, J.R. 1999. Role of Epstein-Barr Virus Encoded Latent Membrane protein in the Carcinogenesis of Nasopharyngeal Carcinoma. *Cellular & Molecular Immunology.* 4 (3) : 185-196

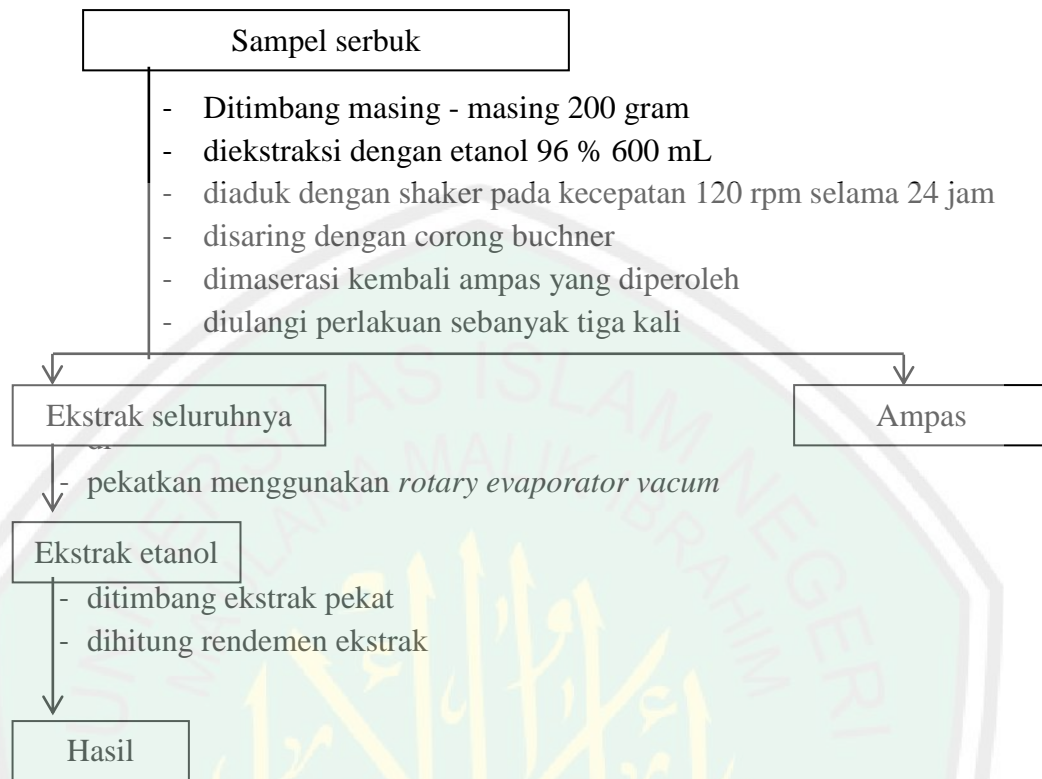
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Skema Kerja

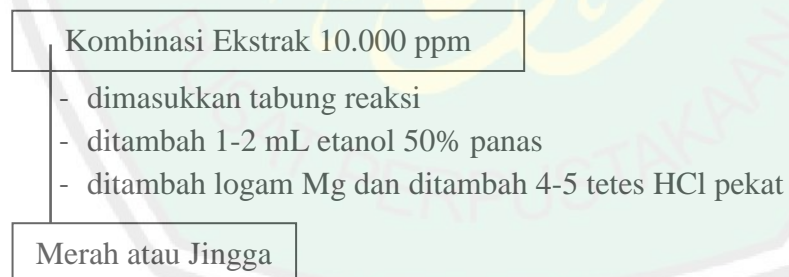
L.2.1 Ekstraksi Maserasi Pelarut Etanol 96%



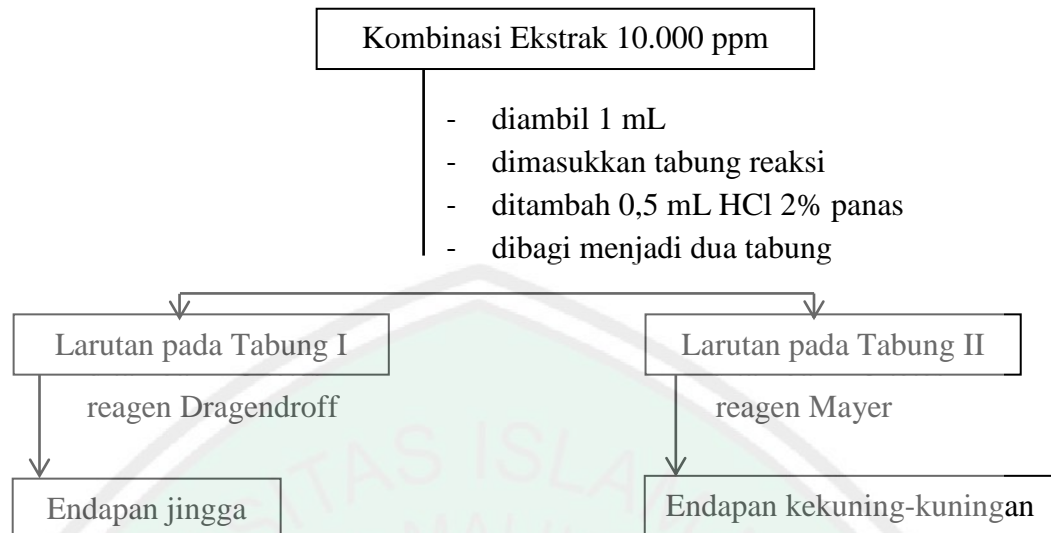
NB: Hasil ekstrak etanol 96% kunyit putih dan buah pare dicampur

L.2.3 Uji Fitokimia

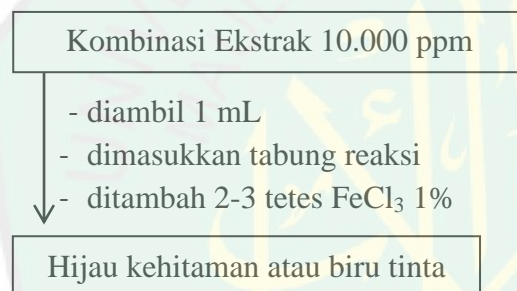
L.2.3.1 Uji Flavonoid



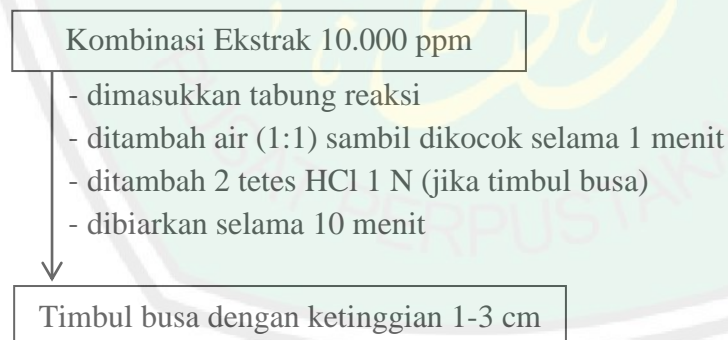
L.2.3.2 Uji Alkaloid



L.2.3.3 Uji Tanin



L.2.3.4 Uji Saponin



L.2.3.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Kombinasi Ekstrak 10.000 ppm

- diambil 1 mL
- dimasukkan tabung reaksi
- dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat
- ↓ - ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung

Cincin kecoklatan atau violet (triterpenoid)
atau warna hijau kebiruan (steroid)

L.2.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak kombinasi Menggunakan DPPH

L.2.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Etanol 96 %

- dilarutkan 2,5 mg dilarutkan dalam 25 mL etanol 96%
- diambil 4,5 mL
- ditambah 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM
- diinkubasi pada 37 °C
- didiamkan selama 10 menit
- ↓ - dimasukkan kuvet
- dicari λ_{maks} pada kisaran 500-530 nm dengan interval 5 nm

Hasil

L.2.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Kombinasi Ekstrak 100 ppm

- dilarutkan 2,5 mg dilarutkan dalam 25 mL etanol 96%
- diambil 4,5 mL
- ditambah 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM
- diinkubasi pada 37 °C
- dimasukkan kuvet
- dicari waktu kestabilan pada rentang waktu 5-120 menit dengan interval 5 menit
- diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui

Hasil

L.2.4.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

Kombinasi Ekstrak

- dibuat larutan dengan konsentrasi 10, 25, 50, 75, 100 ppm
- diambil 4,5 mL
- ditambah 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM
- diinkubasi pada 37 °C
- didiamkan selama waktu kestabilan yang didapat
- dimasukkan kuvet
- diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang telah diketahui

Hasil



Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan

L.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 20 mL etanol p.a (96%)

Mr DPPH = 394,33 g/mol

$$\begin{aligned} n \text{ DPPH} &= \text{volum DPPH} \times M \text{ DPPH} \\ &= 25 \text{ mL} \times 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ M} \\ &= 0,005 \text{ mmol} = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa DPPH} &= n \text{ DPPH} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 1,9717 \cdot 10^{-3} \text{ g} = 1,9717 \text{ mg} \end{aligned}$$

Serbuk DPPH sebanyak ditimbang 1,9717 mg, dilarutkan dengan pelarut etanol 96%, dan ditandabatkan dengan akuades hingga 25 mL dalam labu ukur.

L.3.2 Pembuatan Larutan HCl 2 N

ρ = 1,19 g/mL

Mr HCl = 36,5 g/mol

ekuivalen = 1

$$\begin{aligned} \text{Massa HCl 37\%} &= \rho \times V \\ &= 1,19 \text{ g/mL} \times 37 \text{ mL} = 44,03 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{mol HCl 37\%} &= \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \\ &= \frac{44,03 \text{ gram}}{36,5 \text{ g/mol}} = 1,206 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Normalitas HCl} &= \frac{\text{mol} \times \text{ekuivalen}}{\text{volum (L)}} \\ &= \frac{1,206 \text{ mol} \times 1}{0,1 \text{ L}} \\ &= 12,06 \text{ mol/L (N)} \end{aligned}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,06 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 16,58 \text{ mL} = 16,6 \text{ mL}$$

HCl pekat 37% dipipet sebanyak 16,6 mL dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi akuades 15 mL, kemudian ditandabatkan dengan akuades.

L.3.3 Pembuatan Larutan HCl 1 N

ρ = 1,19 g/mL

Mr HCl = 36,5 g/mol

ekuivalen = 1

$$\begin{aligned} \text{Massa HCl 37\%} &= \rho \times V \\ &= 1,19 \text{ g/mL} \times 37 \text{ mL} = 44,03 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\text{mol HCl 37\%} = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}}$$

$$= \frac{44,03 \text{ gram}}{36,5 \text{ g/mol}} = 1,206 \text{ mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Normalitas HCl} &= \frac{\text{mol x ekuivalen}}{\text{volum (L)}} \\ &= \frac{1,206 \text{ mol x 1}}{0,1 \text{ L}} \\ &= 12,06 \text{ mol/L (N)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 12,06 \text{ N} \times V_1 &= 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= 8,29 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL} \end{aligned}$$

HCl pekat 37% dipipet sebanyak 8,3 mL dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi akuades 15 mL, kemudian ditandabatkan dengan akuades.

L.3.4 Pembuatan Larutan HCl 2%

$$\begin{aligned} \% \times V_1 &= \% \times V_2 \\ 37 \% \times V_1 &= 2 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,54 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

HCl pekat 37% dipipet sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi akuades 5 mL, kemudian ditandabatkan dengan akuades.

L.3.5 Pembuatan FeCl₃ 1%

$$\begin{aligned} \% \text{ konsentrasi} &= \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{massa zat terlarut + massa pelarut}} \times 100 \% \\ \text{Massa zat terlarut + massa pelarut} &= \frac{\text{massa zat terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100 \% \\ 1 \text{ g} + \text{massa pelarut} &= \frac{1 \text{ g}}{1 \%} \times 100 \% \\ \text{Massa pelarut} &= 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ mL} \\ \text{Volum pelarut} &= \frac{\text{massa pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 99 \text{ mL} \end{aligned}$$

Serbuk FeCl₃.6H₂O ditimbang sebanyak 1 gram, dilarutkan dengan akuades hingga 100 mL dalam *beaker glass* dan diaduk.

L.3.6 Pembuatan Etanol 50%

$$\begin{aligned} \% \times V_1 &= \% \times V_2 \\ 96 \% \times V_1 &= 5 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,52 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Etanol 96% dipipet sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditandabatkan dengan akuades.

L.3.7 Pembuatan Reagen Dragendorf

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatan adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 gram $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3$ dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam beaker glass untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 gram KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquades ke dalam beaker glass untuk melarutkan serbuk dengan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, 1996).

L.3.8 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl_2 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatan adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 1,358 gram dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan disertai pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gram dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Kemudian ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan disertai pengadukan. Selanjutnya larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Kemudian diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Wagner, 1996).

L.3.9 Pembuatan Reagen Liebermann-Buchard

Asam sulfat pekat = 5 mL

Anhidrida asetat = 5 mL

Etanol absolut = 50 mL

Cara pembuatan adalah asam sulfat pekat diambil sebanyak 5 mL dengan pipet volume 5 mL dan pengambilannya dilakukan dilemari asam. Kemudian larutan asam sulfat tersebut dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Selanjutnya diambil larutan anhidrida asetat sebanyak 5 mL di dalam lemari asam dan dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah berisi asam sulfat. Kemudian diambil larutan etanol absolute 50 mL di dalam lemari asam dan dicampurkan ke dalam asam sulfat dan anhidrida asetat. Setelah itu ketiga campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam botol kaca dan didinginkan di dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 1996).

L.3.10 Pembuatan Larutan Sampel

➤ Pembuatan Larutan Stok Sampel 10.000 ppm dalam 5 mL

ppm = mg/L

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{\text{berat (mg)}}{0,005 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= 0,005 \text{ L} \times 10.000 \text{ ppm} \\ &= 50 \text{ mg} = 0,05 \text{ gram} \end{aligned}$$

Esktrak kombinasi ditimbang 0,05 g, dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 5 mL.

➤ Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm dalam 10 mL

$$\text{ppm1} \times V1 = \text{ppm2} \times V2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,1 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,100 mL dimasukkan labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas.

➤ Pembuatan Larutan Sampel 75 ppm dalam 10 mL

$$\text{ppm1} \times V1 = \text{ppm2} \times V2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V1 = 75 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,075 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,075 mL dimasukkan labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas.

➤ **Pembuatan Larutan Sampel 50 ppm dalam 10 mL**

$$\text{ppm}_1 \times V_1 = \text{ppm}_2 \times V_2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,050 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,050 mL dimasukkan labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas.

➤ **Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm dalam 10 mL**

$$\text{ppm}_1 \times V_1 = \text{ppm}_2 \times V_2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,025 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,025 mL dimasukkan labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas.

➤ **Pembuatan Larutan Sampel 10 ppm dalam 10 mL**

$$\text{ppm}_1 \times V_1 = \text{ppm}_2 \times V_2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,01 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,01 mL dimasukkan labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas.

Lampiran 4 Data Hasil Penelitian dan Perhitungan

L.4.1 Randemen Ekstrak Etanol 96%

$$\% \text{Randemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

❖ Kunyit Putih

$$= \frac{43,36 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 21\%$$

❖ Buah Pare

$$= \frac{30,26 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 15\%$$

L.4.2 Penentuan Waktu Kestabilan Antioksidan Sampel dan Inkubasi 37° C

Waktu Kestabilan /Menit Ke	Absorbansi Variasi Ekstrak Etanol 96% kombinasi Rimpang Kunyit putih : Buah Pare					Asam Askorbat
	K:P 1,75:0,25	K:P 1,5:0,5	K:P 1,0:1,0	K:P 0,5:1,5	K:P 0,25:1.75	
0	0,34	0,49	0,14	0,93	0,97	0,018
5	0,21	0,42	0,12	0,89	0,91	0,018
10	0,2	0,39	0,12	0,86	0,88	0,018
15	0,18	0,37	0,12	0,84	0,86	0,017
20	0,18	0,35	0,12	0,84	0,85	0,018
25	0,17	0,33	0,12	0,83	0,84	0,017
30	0,15	0,32	0,12	0,82	0,83	0,017
35	0,14	0,31	0,12	0,81	0,83	0,018
40	0,14	0,3	0,12	0,81	0,82	0,018
45	0,13	0,29	0,12	0,81	0,81	0,018
50	0,12	0,29	0,12	0,81	0,8	0,018
55	0,12	0,28	0,12	0,81	0,8	0,018
60	0,11	0,28	0,12	0,8	0,8	0,018
65	0,11	0,27	0,12	0,8	0,79	0,018
70	0,1	0,27	0,12	0,8	0,79	0,018
75	0,11	0,26	0,12	0,8	0,78	0,019
80	0,1	0,26	0,13	0,79	0,78	0,019
85	0,1	0,25	0,13	0,8	0,77	0,019

90	0,09	0,24	0,13	0,79	0,77	0,019
95	0,09	0,24	0,13	0,79	0,78	0,019
100	0,09	0,24	0,13	0,81	0,78	0,019
105	0,09	0,23	0,13	0,82	0,78	0,019
110	0,08	0,23	0,15	0,82	0,78	0,019
115	0,09	0,22	0,13	0,82	0,78	0,019
120	0,08	0,22	0,14	0,82	0,77	0,019

L.4.3 Hasil Uji Aktivitas Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis

❖ Sampel Kombinasi Kunyit Putih dan Buah Pare (1,75:0,25)

Ulangan	Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	% Antioksidan
U1	10	0,5588	0,4289	23,2462
U2		0,5584	0,4297	23,0480
U3		0,5596	0,4314	22,9092
U1	25	0,5589	0,4007	28,3056
U2		0,5597	0,3948	29,4622
U3		0,5596	0,3942	29,5568
U1	50	0,5605	0,3867	31,0080
U2		0,5608	0,3809	32,0792
U3		0,5610	0,3849	31,3904
U1	75	0,5612	0,2758	50,8553
U2		0,5616	0,2923	47,9523
U3		0,5622	0,2888	48,6304
U1	100	0,5615	0,2050	63,4907
U2		0,5615	0,2070	63,1345
U3		0,5619	0,1980	64,7624

	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
U1	23,246	28,306	31,008	50,86	63,491	75,559	76,56
U2	23,048	29,462	32,079	47,95	63,135	78,658	
U3	22,909	29,556	31,390	48,63	64,762	75,464	

❖ Sampel Kombinasi Kunyit Putih dan Buah Pare (1,5:0,5)

Ulangan	Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	% Antioksidan
U1	10	0,4366	0,3763	13,8113

U2			0,4360	0,3781	13,2798		
U3			0,4361	0,3758	13,8271		
U1		25	0,4375	0,3320	24,1143		
U2			0,4369	0,3288	24,7425		
U3			0,4371	0,3297	24,5710		
U1		50	0,4359	0,2860	34,3886		
U2			0,4358	0,2866	34,2359		
U3			0,4365	0,2829	35,1890		
U1		75	0,4355	0,2251	48,3123		
U2			0,4362	0,2261	48,1660		
U3			0,4372	0,2256	48,3989		
U1		100	0,4363	0,1176	73,0461		
U2			0,4368	0,1160	73,4432		
U3			0,4379	0,1115	74,5376		
	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
U1	13,811	24,114	34,389	48,312	73,046	69,231	68,50
U2	13,280	24,743	34,236	48,166	73,443	69,320	
U3	13,827	24,571	35,189	48,399	74,537	66,948	

❖ **Sampel Kombinasi Kunyit Putih dan Buah Pare (1,0:1,0)**

Ulangan	Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	% Antioksidan
U1	10	0,3882	0,3405	12,2875
U2		0,3851	0,3381	12,2046
U3		0,3831	0,3365	12,1639
U1	25	0,3839	0,3329	13,2847
U2		0,3813	0,3310	13,1917
U3		0,3807	0,3298	13,3701
U1	50	0,3811	0,2567	32,6424
U2		0,3806	0,2554	32,8954
U3		0,3807	0,2534	33,4384
U1	75	0,3801	0,2032	46,5404
U2		0,3802	0,2038	46,3966
U3		0,3808	0,2053	46,0872
U1	100	0,3811	0,1467	61,5062
U2		0,3806	0,1392	63,4262
U3		0,3812	0,1465	61,5687

	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
U1	12,288	13,285	32,642	46,540	61,506	83,114	82,10
U2	12,205	13,192	32,895	46,397	63,426	80,674	
U3	12,164	13,370	33,438	46,087	61,569	82,502	

❖ **Sampel Kombinasi Kunyit Putih dan Buah Pare (0,5:1,5)**

Ulangan	Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	% Antioksidan
U1	10	0,5798	0,5694	1,7937
U2		0,5789	0,5630	2,7466
U3		0,5792	0,5668	2,1409
U1	25	0,5806	0,5346	7,9228
U2		0,5817	0,5374	7,6156
U3		0,5814	0,5310	8,6687
U1	50	0,5808	0,4636	20,1791
U2		0,5813	0,4669	19,6800
U3		0,5815	0,4618	20,5847
U1	75	0,5820	0,4334	25,5326
U2		0,5813	0,4332	25,4774
U3		0,5837	0,4352	25,4412
U1	100	0,5820	0,3720	36,0825
U2		0,5826	0,3699	36,5088
U3		0,5834	0,3726	36,1330

	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
U1	1,794	7,923	20,179	25,533	36,083	167,212	171,74
U2	2,747	7,616	19,680	25,478	36,509	175,435	
U3	2,141	8,669	20,585	25,441	36,133	172,561	

❖ **Sampel Kombinasi Kunyit Putih dan Buah Pare (0,25:1,75)**

Ulangan	Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	% Antioksidan
U1	10	0,5814	0,5453	6,2092
U2		0,5792	0,5423	6,3709
U3		0,5770	0,5354	7,2097

U1	25	0,5759	0,5087	11,6687
U2		0,5745	0,5142	10,4961
U3		0,5734	0,5134	10,4639
U1	50	0,5732	0,4511	21,3015
U2		0,5727	0,4545	20,6391
U3		0,5725	0,4262	25,5546
U1	75	0,5721	0,4043	29,3305
U2		0,5728	0,4001	30,1501
U3		0,5712	0,4017	29,6744
U1	100	0,5705	0,3379	40,7713
U2		0,5721	0,3565	37,6857
U3		0,5714	0,3573	37,4694

	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
U1	6,210	11,669	21,302	29,331	40,771	176,80	187,52
U2	6,371	10,496	20,639	30,150	37,686	192,89	
U3	7,210	10,464	25,555	29,674	37,469	192,87	

❖ Asam Askorbat

Ulangan	Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	% Antioksidan
U1	10	0,4531	0,1120	75,2814
U2		0,4528	0,1125	75,1546
U3		0,4530	0,1117	75,3422
U1	25	0,4538	0,0635	86,0071
U2		0,4537	0,0633	86,0480
U3		0,4539	0,0633	86,0542
U1	50	0,4533	0,0335	92,6098
U2		0,4532	0,0335	92,6081
U3		0,4534	0,0338	92,5452
U1	75	0,4533	0,0303	93,3157
U2		0,4535	0,0303	93,3186
U3		0,4534	0,0304	93,2951
U1	100	0,4534	0,0302	93,3392
U2		0,4535	0,0302	93,3407
U3		0,4534	0,0303	93,3172

	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
U1	75,281	86,007	92,610	93,316	93,334	1,62	1,62
U2	75,154	86,048	92,608	93,317	93,340	1,65	
U3	75,342	86,054	92,545	93,295	93,317	1,60	

L.4.4 Perhitungan Nilai *Retention Factor* (Rf) Hasil KLTA

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

L.4.4.1 Flavonoid

a. Metanol:Kloroform (7:3) 366 nm

❖ Sampel Rimpang Kunyit Putih

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= - & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,93 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,1 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,77 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,75 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,85 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,2 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,91 \end{aligned}$$

❖ Sampel Buah Pare

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,05 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,05 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,83 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{7,55 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,87 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,57 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,84 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81 & \text{Rf noda 5} &= \frac{4,95 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,62 \\ \text{Rf B noda 4} &= \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,80 & \text{Rf noda 5} &= \frac{4,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,53 \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,80 & \text{Rf noda 5} &= \frac{5,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63 \end{aligned}$$

❖ Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{5,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,64 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,83 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{4,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,60 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,93 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{5,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,74 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,76 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,4 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,80 \end{aligned}$$

Rf A noda 4= -

Rf B noda 4= -

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,90$$

b. n-butanol:Asam Asetat:Air (4:5:1) 366 nm

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 \quad \text{Rf noda 3} = -$$

254 nm

$$\text{Rf A noda 4} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,85 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,76$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,7$$

254 nm

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{5,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,73 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,82 \quad \text{Rf noda 2} = - \quad \text{Rf noda 3} = -$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,83$$

L.4.4.2 Alkaloid

a. Kloroform:Metanol (9:1) 366 nm

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,59$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,97 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,57$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,97 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,57$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{6,75 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,84 & \text{Rf noda 2} &= \frac{5,65 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,71 & \text{Rf noda 3} &= \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 & \text{Rf noda 2} &= \frac{5,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,74 & \text{Rf noda 3} &= \frac{4,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,58 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,77 & \text{Rf noda 2} &= \frac{5,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,73 & \text{Rf noda 3} &= \frac{3,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,49 \end{aligned}$$

254 nm

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,25 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,45 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,93 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,86 & \text{Rf C noda 1} &= \frac{5,85 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,73 \end{aligned}$$

❖ Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95 & \text{Rf noda 3} &= - \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,84 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,86 \end{aligned}$$

$$\text{Rf A noda 4} = -$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89$$

b. Kloroform:Metanol (1:4) 366 nm

❖ Sampel Rimpang Kunyit Putih

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,1 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,91 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,87 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,81 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,87 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,5 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,83 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,77 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,83 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 \end{aligned}$$

❖ Sampel Buah Pare

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,58 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,87 & \text{Rf noda 2} &= \frac{5,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,71 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81 & \text{Rf noda 2} &= - \end{aligned}$$

254 nm

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{6,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{6,6 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,84$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{6,3 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,79$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{5,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,66 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,76 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{3,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,43 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56 & \text{Rf noda 3} &= - \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{5,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,64 & \text{Rf noda 2} &= \frac{5,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,73 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78 \end{aligned}$$

$$\text{Rf A noda 4} = -$$

$$\text{Rf B noda 4} = -$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81$$

c. Etil Asetat: metanol:air (3:2:1) 366 nm

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,99$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{6,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,99$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,45 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,93$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,4 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,93 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87 \quad \text{Rf noda 3} = -$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{6,5 \text{ cm}}{8} = 0,96 \quad \text{Rf noda 2} = - \quad \text{Rf noda 3} = -$$

$$\text{Rf A noda 4} = \frac{7,05 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88$$

$$\text{Rf B noda 4} = -$$

$$\text{Rf C noda 4} = -$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{3,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,45 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,67$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{3,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,39 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,12 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,63 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98$$

$$\text{Rf A noda 4} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94$$

$$\text{Rf B noda 4} = -$$

$$\text{Rf C noda 4} = -$$

L.4.4.3 Saponin

a. Kloroform:metanol:Air (3:1:1) 366 nm

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,99 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 & \text{Rf noda 3} &= - \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,6 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,97 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,2 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,92 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{7,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,99 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87 \end{aligned}$$

$$\text{Rf A noda 4} = -$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{6,3 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,81$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{6,25 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,80 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{4,25 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,54$$

254 nm

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,99$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,9 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,99 \quad \text{Rf A noda 1} = \frac{2,2 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,28$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,65 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,98 \quad \text{Rf B noda 1} = \frac{7,25 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,28$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{4,5 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,57 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,51$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,83 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{2,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,35$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{4,3 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,54 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,51$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{0,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,02 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{0,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,05 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{0,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,09$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{5,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,65 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,7 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

$$\text{Rf A noda 4} = -$$

$$\text{Rf noda 5} = -$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78$$

$$\text{Rf C noda 4} = -$$

$$\text{Rf noda 5} = -$$

b. Kloroform:Aseton (4:1) 366 nm

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,9 \text{ cm}}{8} = 0,99 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,5 \text{ cm}}{8} = 0,94 \quad \text{Rf noda 3} = -$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,6 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,97 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,2 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,92 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,99 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= - & \text{Rf noda 5} &= - \\ \text{Rf B noda 4} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,81 & \text{Rf noda 5} &= - \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{6,25 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,80 & \text{Rf noda 5} &= \frac{4,25 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,54 \end{aligned}$$

❖ Sampel Buah Pare

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,7 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,99 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4,5 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,58 & \text{Rf noda 3} &= \frac{3,1 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,39 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,85 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98 & \text{Rf noda 2} &= \frac{2,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,36 & \text{Rf noda 3} &= \frac{1,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,23 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{7,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,99 & \text{Rf noda 2} &= \frac{3,35 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,42 & \text{Rf noda 3} &= \frac{2,6 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= \frac{1,9 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,24 \\ \text{Rf B noda 4} &= - \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{1,2 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,15 \end{aligned}$$

❖ Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{0,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,09 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,76 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{0,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,03 & \text{Rf noda 2} &= \frac{0,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,05 & \text{Rf noda 3} &= \frac{0,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,09 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,08 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,61 & \text{Rf noda 3} &= \frac{5,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,69 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 & \text{Rf noda 5} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92 & \text{Rf noda 6} &= - \\ \text{Rf B noda 4} &= \frac{5,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,25 & \text{Rf noda 5} &= \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 & \text{Rf noda 6} &= - \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8 & \text{Rf noda 5} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 & \text{Rf noda 6} &= \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 7} &= - \\ \text{Rf B noda 7} &= - \\ \text{Rf C noda 7} &= \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95 \end{aligned}$$

L.4.4.4 Tanin

a. n-heksana:etil asetat (3:2) 366 nm

❖ Sampel Rimpang Kunyit Putih

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{3,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,48 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,58 & \text{Rf noda 3} &= \frac{5,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,64 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{4,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,54 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,6 & \text{Rf noda 3} &= - \end{aligned}$$

$$\text{Rf A noda 4} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{1,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,15 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{3,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,43 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{0,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,09 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{3,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{0,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,09 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{2,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,36 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{1,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,22 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{0,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,07 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{2,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,26 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{3,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,4 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,52 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,52 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92$$

$$\text{Rf A noda 4} = \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{7,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,97$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{7,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,97$$

b. n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) 366 nm

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{3,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,38 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{3,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,38 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{3,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,43 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{5,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,72 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{7,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,825 \quad \text{Rf noda 2} = - \quad \text{Rf noda 3} = -$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,79 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,825$$

L.4.4.5 Triterpenoid

a. *n*-heksana : Etil Asetat (1:4)

❖ Sampel Rimpang Kunyit Putih

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{2,7 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,35 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,12 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,90 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,95 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{2,75 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,35 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,94 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,35 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,94 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{2,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,36 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,25 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,93 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,95 \\ \text{Rf B noda 4} &= \frac{7,35 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,94 \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96 \end{aligned}$$

254 nm

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{2,7 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,35 & \text{Rf noda 2} &= \frac{5,9 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,76 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,87 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{2,75 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,35 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,15 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,79 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,87 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{2,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,36 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,05 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,78 & \text{Rf noda 3} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,97 \end{aligned}$$

❖ Sampel Buah Pare

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,7 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,99 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,88 \text{ cm}} = 0,87 & \text{Rf noda 3} &= \frac{4,3 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,55 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,6 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,97 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,6 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,85 & \text{Rf noda 3} &= \frac{4,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,56 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{7,85 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,98 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,84 & \text{Rf noda 3} &= \frac{4,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= \frac{2,5 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,32 \\ \text{Rf B noda 4} &= \frac{2,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,36 \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{2,25 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \end{aligned}$$

254 nm

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,95 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,6 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,97 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,94 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{7,95 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,98 & \text{Rf noda 2} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,93 \end{aligned}$$

❖ Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{6,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,8 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,82 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{6,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,78 & \text{Rf noda 2} &= \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81 & \text{Rf noda 3} &= \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,89 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95 \\ \text{Rf B noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,94 \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,93 \end{aligned}$$

b. *n*-heksana : Etil Asetat (7:3)

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{2,2 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,28 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,50 & \text{Rf noda 3} &= \frac{5,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,68 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{2,15 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,27 & \text{Rf noda 2} &= \frac{3,95}{7,9} = 0,50 & \text{Rf noda 3} &= \frac{5,2 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,66 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 & \text{Rf noda 2} &= \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,50 & \text{Rf noda 3} &= \frac{5,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,68 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 4} &= \frac{7,65 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,96 \\ \text{Rf B noda 4} &= \frac{7,5 \text{ cm}}{7,9} = 0,95 \\ \text{Rf C noda 4} &= \frac{7,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,91 \end{aligned}$$

254 nm

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{6,86 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,88 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{7,02 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,90 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{7,35 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,93 \end{aligned}$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,88 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{6,8 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,86 \\ \text{Rf C noda 1} &= \frac{6,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,87 \end{aligned}$$

254 nm

$$\begin{aligned} \text{Rf A noda 1} &= \frac{5,75 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,74 \\ \text{Rf B noda 1} &= \frac{5,6 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,71 \end{aligned}$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{5,7 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,72$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{1,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,15 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,28 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{0,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,09 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{1,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,19 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,81$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{1,28 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,16 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{2,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,26 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{6,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,76$$

$$\text{Rf A noda 4} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95 \quad \text{Rf noda 6} = -$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{7,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,88 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{7,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,92 \quad \text{Rf noda 6} = \frac{7,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,96$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{7,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,9 \quad \text{Rf noda 6} = \frac{7,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,95$$

c. Kloroform : metanol (3:7)

❖ **Sampel Rimpang Kunyit Putih**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{7,2 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,92 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,7 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,85$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{7,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,95 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{6,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,87$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{7,5 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,95 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{7,1 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,89$$

❖ **Sampel Buah Pare**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{5,7 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,73 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,69 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{5 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,64$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{6,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,85 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,73 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{5,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,67$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{6,7 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,85 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5,9 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,75 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{5,45 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,95$$

$$\text{Rf A noda 4} = \frac{4,8 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,61 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{4,4 \text{ cm}}{7,8 \text{ cm}} = 0,56$$

$$\text{Rf B noda 4} = \frac{5,25 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,65 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{4,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,57$$

$$\text{Rf C noda 4} = \frac{5,35 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,67 \quad \text{Rf noda 5} = \frac{4,7 \text{ cm}}{7,9 \text{ cm}} = 0,59$$

❖ **Sampel Kombinasi K:P (1,5:0,5)**

$$\text{Rf A noda 1} = \frac{4,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,53 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,66 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{5,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,71$$

$$\text{Rf B noda 1} = \frac{4,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,51 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{5,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,69 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{5,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,72$$

$$\text{Rf C noda 1} = \frac{3,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,43 \quad \text{Rf noda 2} = \frac{4,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,6 \quad \text{Rf noda 3} = \frac{5,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,69$$

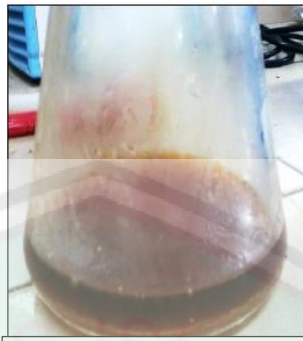
Lampiran 5. Dokumentasi

L.5.1. Ekstraksi Maserasi sampel

L.5.1.1 Kunyit Putih



Rimpang Kunyit putih
Filtrat Hari ke-1



Rimpang Kunyit putih
Filtrat Hari ke-2



Rimpang Kunyit putih
Filtrat Hari ke-3

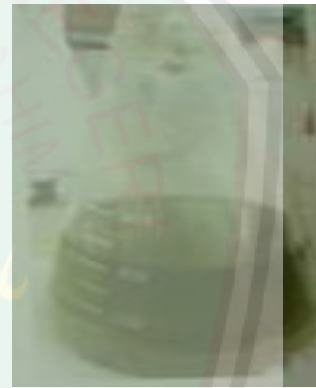
L.5.1.2 Buah Pare



Buah Pare
Filtrat Hari ke-1



Buah Pare
Filtrat Hari ke-2

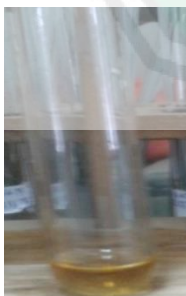


Buah Pare
Filtrat Hari ke-3

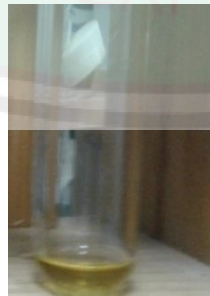
L.5.2. Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder

L.5.2.1 Identifikasi menggunakan Reagen Fitokimia

L.5.2.1 Uji Flavonoid



Rimpang kunyit
putih

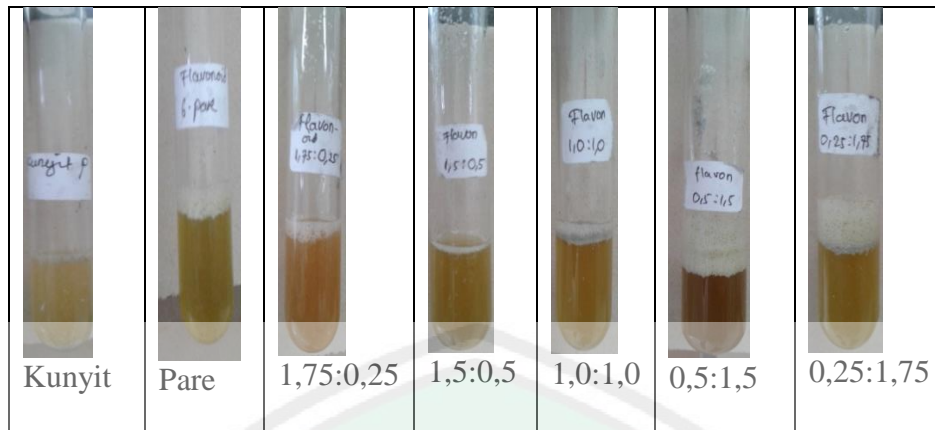


Buah Pare



Ekstrak Kombinasi

Sebelum Penambahan Reagen



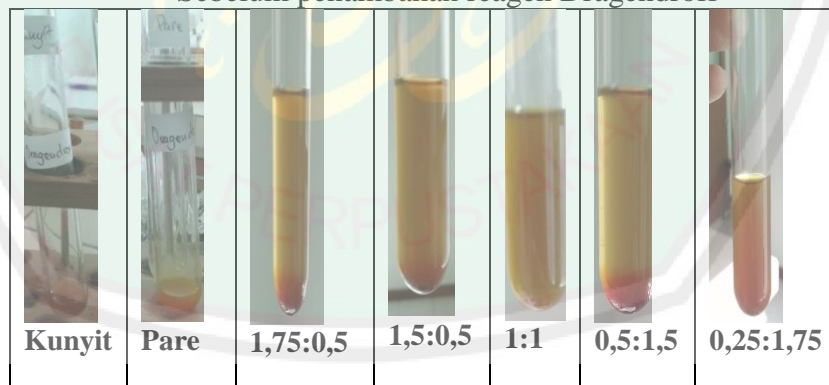
Setelah penambahan reagen

L.5.2.2 Uji Alkaloid

➤ Reagen Dragendoff

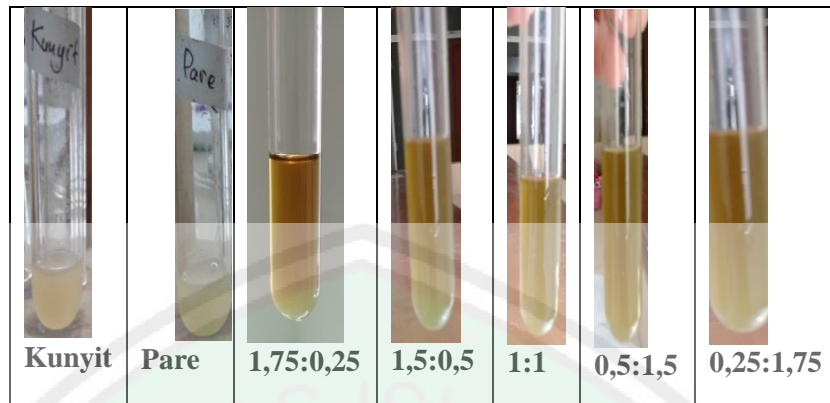


Sebelum penambahan reagen Dragendoff



Setelah penambahan reagen dragendroff

➤ **Mayer**

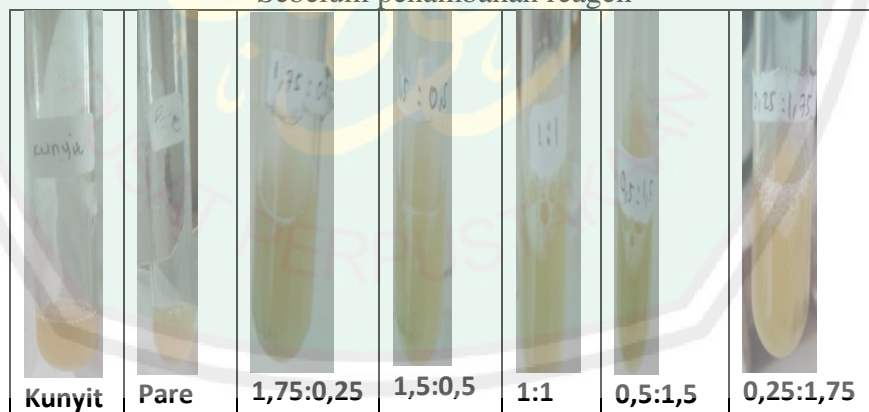


Setelah penambahan reagen dragendroff

L.5.3.3 Uji Saponin



Sebelum penambahan reagen



Setelah penambahan reagen

L.5.2.4 Uji Tanin



Setelah penambahan reagen

L.5.2.5 Uji Triterpenoid/Steroid



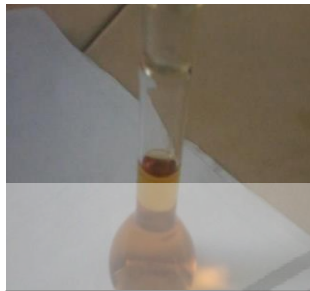
Sebelum penambahan reagen



Setelah penambahan reagen

L.5.4. Penentuan aktivitas Antioksidan

L.5.3.1 Pembuatan Larutan Stok 10.000 ppm



Rimpang Kunyit Putih



Buah Pare

L.5.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



L.5.3.3 Penentuan Aktivitas antioksidan Pada Sampel

L.5.3.3.1 Sebelum ditambahkan DPPH

K:P 1.75:0.25



K:P 1.5:0.5



K:P 1,0:1,0



K:P 0.5:1.5





Sebelum ditambahkan DPPH

L.5.3.3.2 Setelah ditambahkan DPPH dan diinkubasi

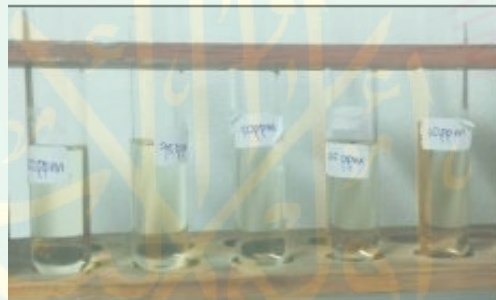




Rimpang Kunyit putih : Buah Pare (0,5:1,5)



Rimpang Kunyit putih : Buah Pare (0,25:1,75)

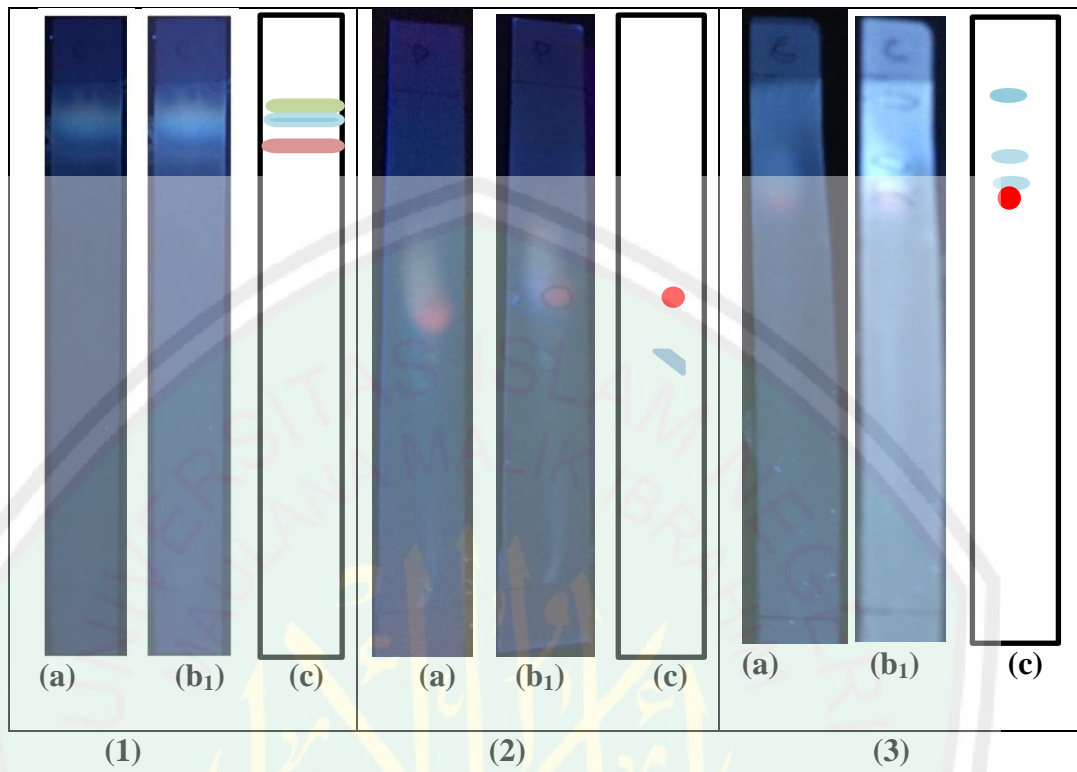


Asam Askorbat

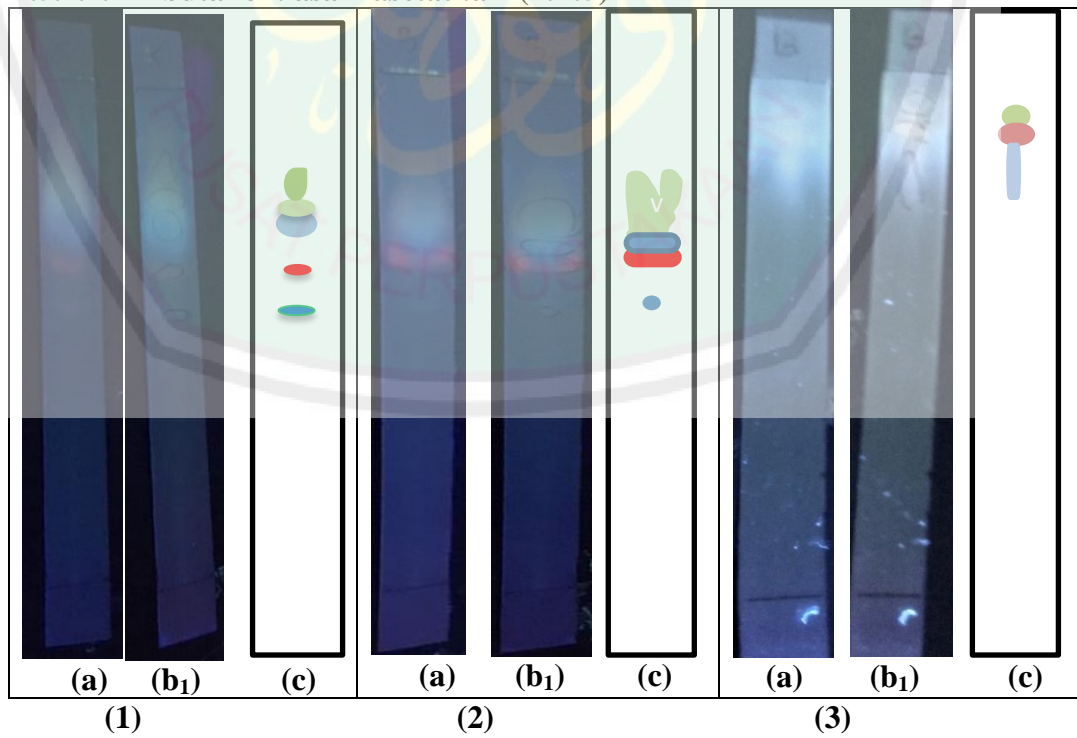
L.5.4 Identifikasi Menggunakan KLTA

L.5.4.1 Flavonoid

L.5.4.1.1 Metanol : Kloroform

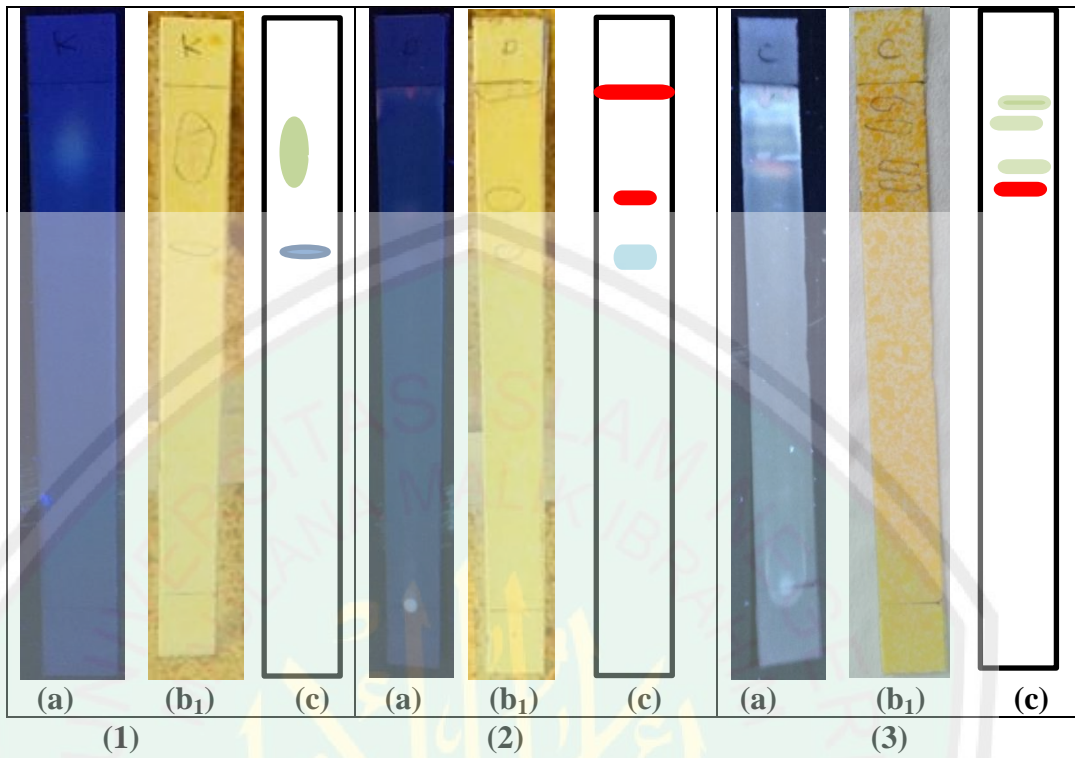


L.5.4.1.2 n-butanol : asam asetat :air (4:1:5)

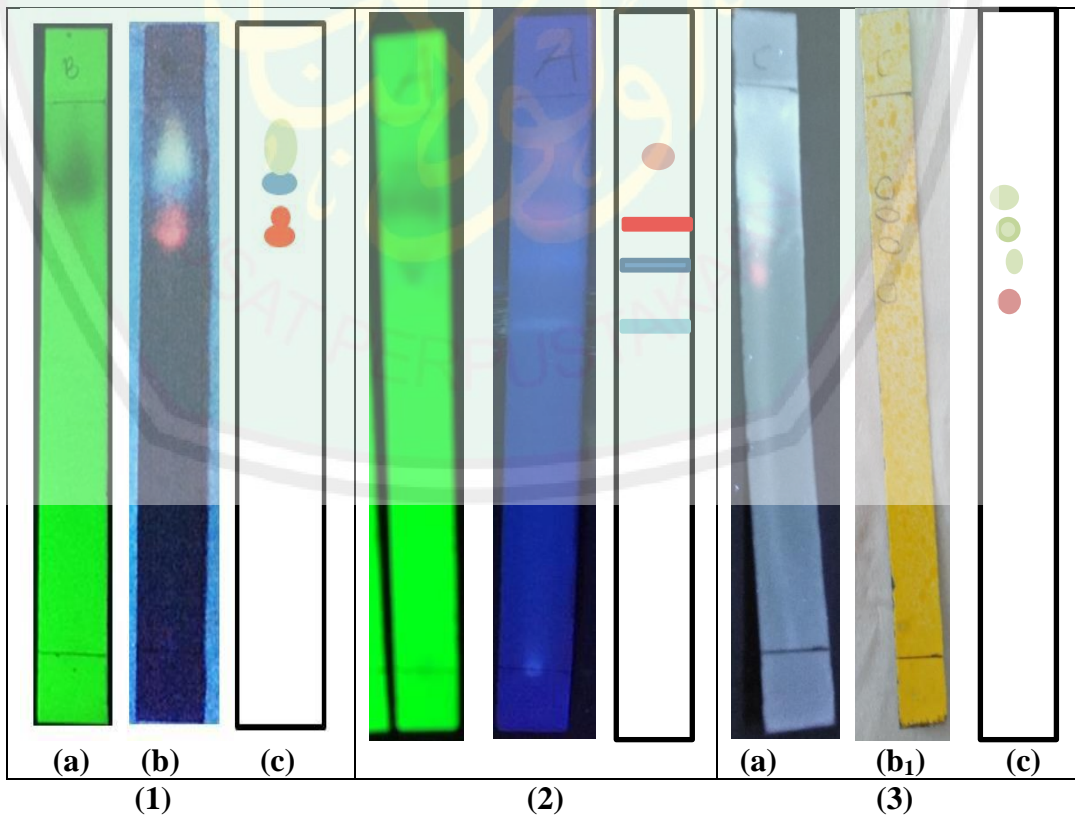


L.5.4.2 Alkaloid

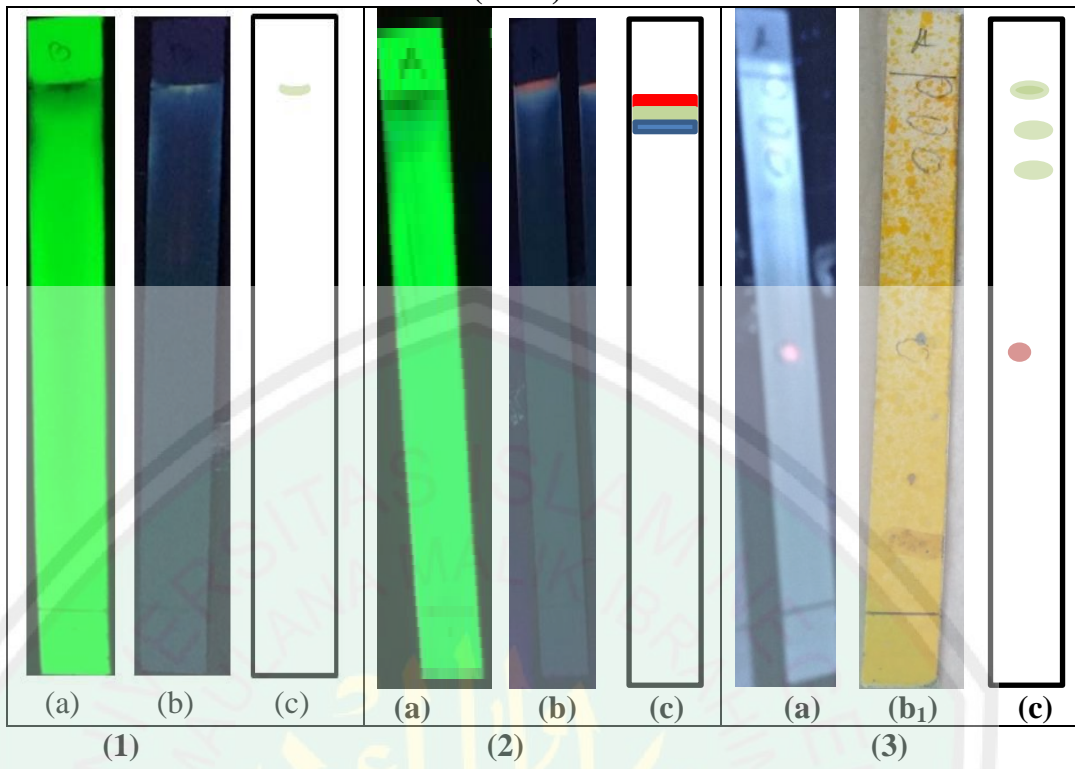
L.5.4.2.1 Kloroform : metanol (9:1)



L.5.4.2.2 Kloroform : metanol (1:4)

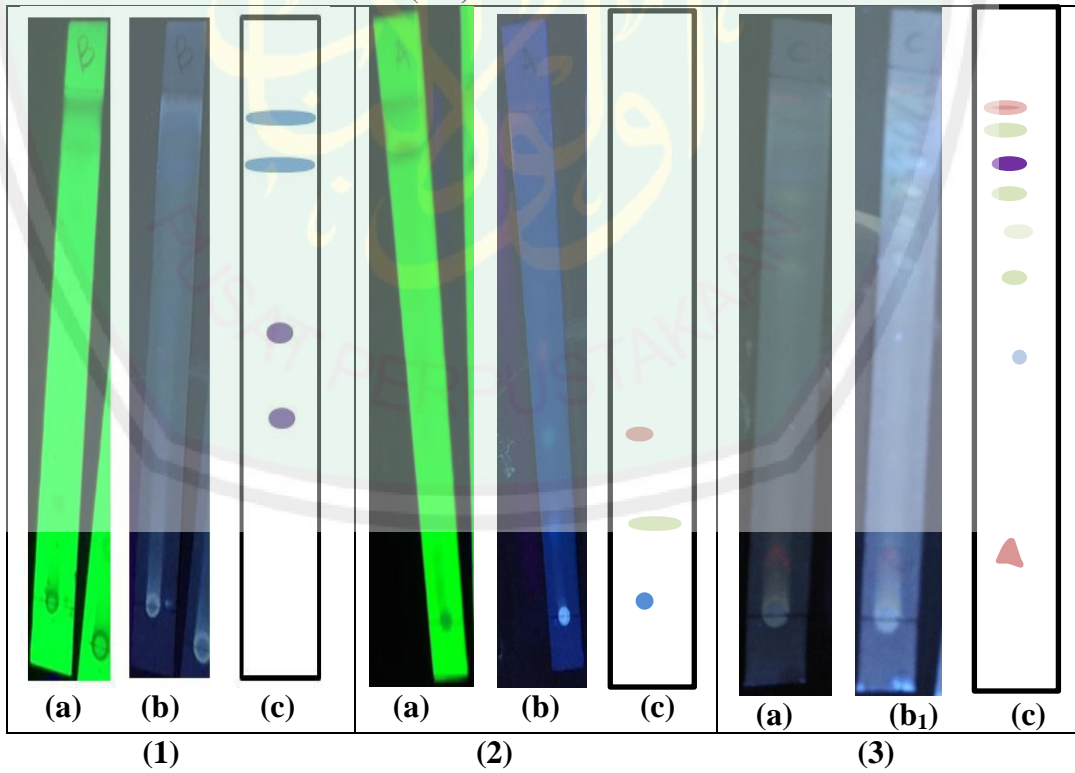


L.5.4.2.3 Etil asetat : metanol: air (3:2:1)

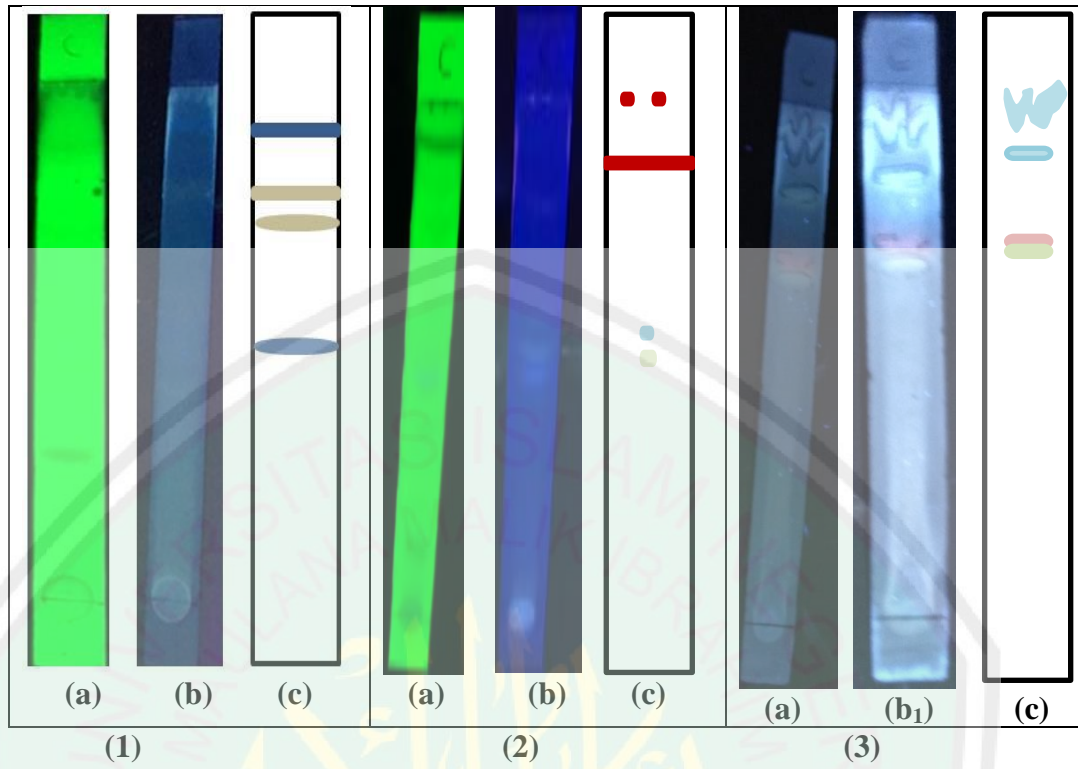


L.5.4.3 Saponin

L.5.4.3.1 Kloroform : Aseton (4:1)

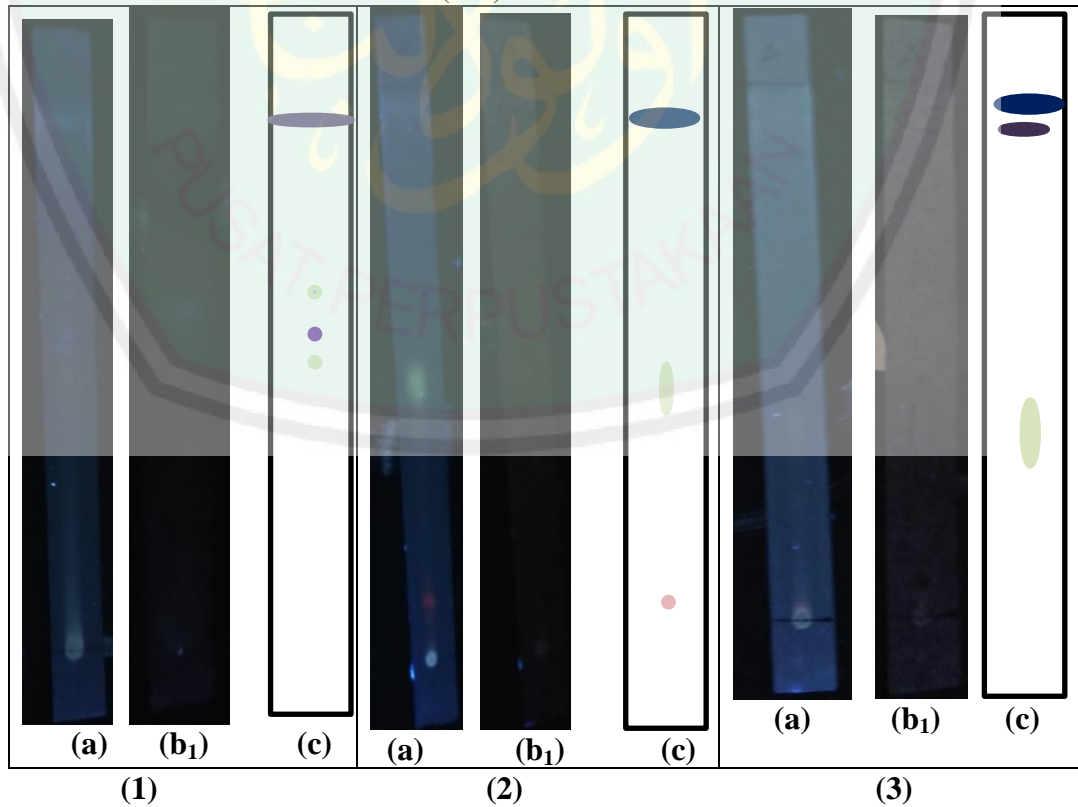


L.5.4.3.2 Kloroform : metanol : air (3:1:1)

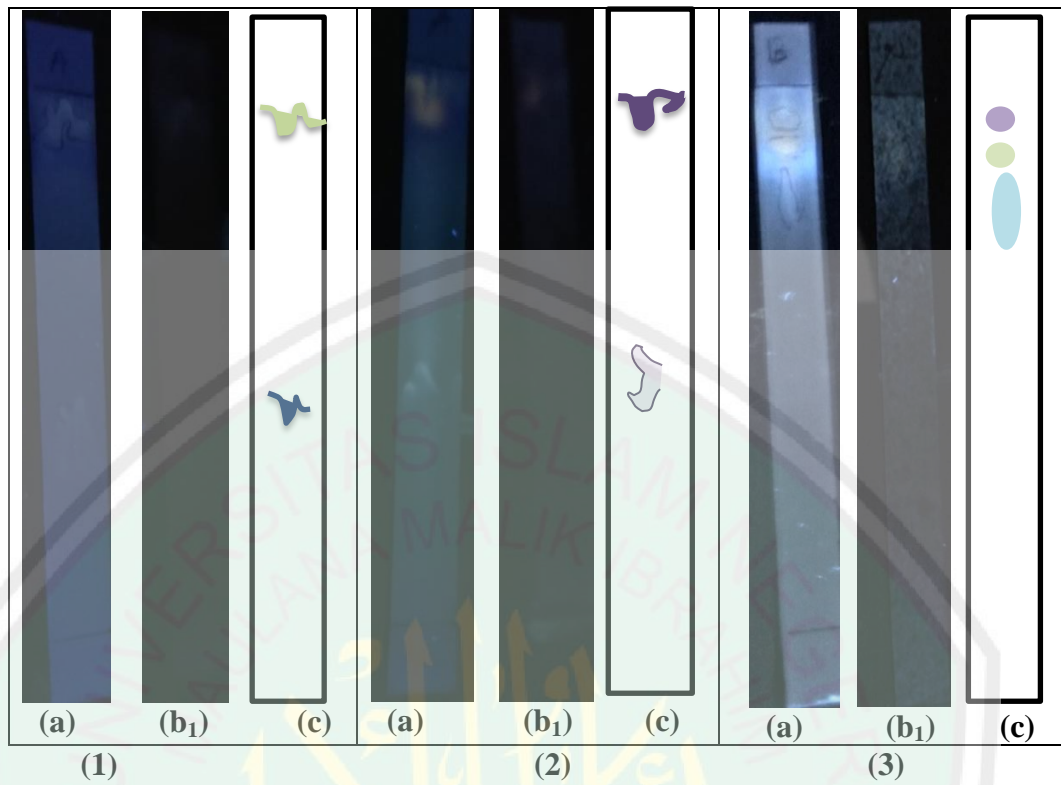


L.5.4.4 Tanin

L.5.4.4.1 n-heksana : etil asetat (3:2)

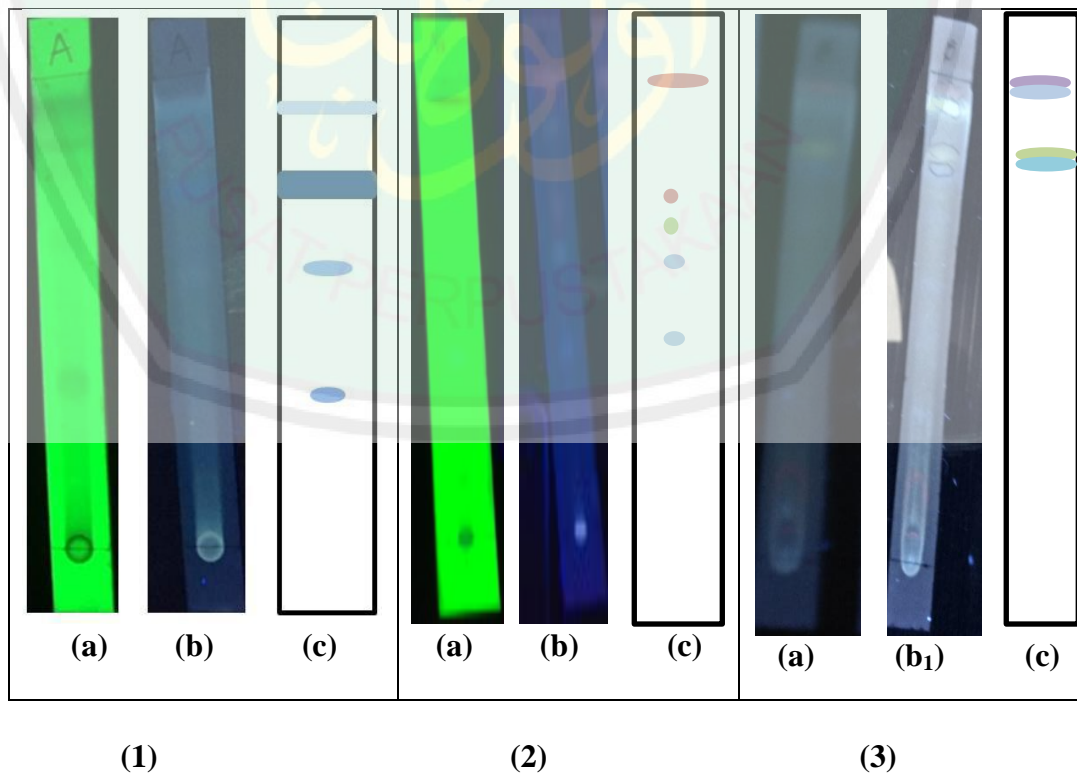


L.5.4.4.2 n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

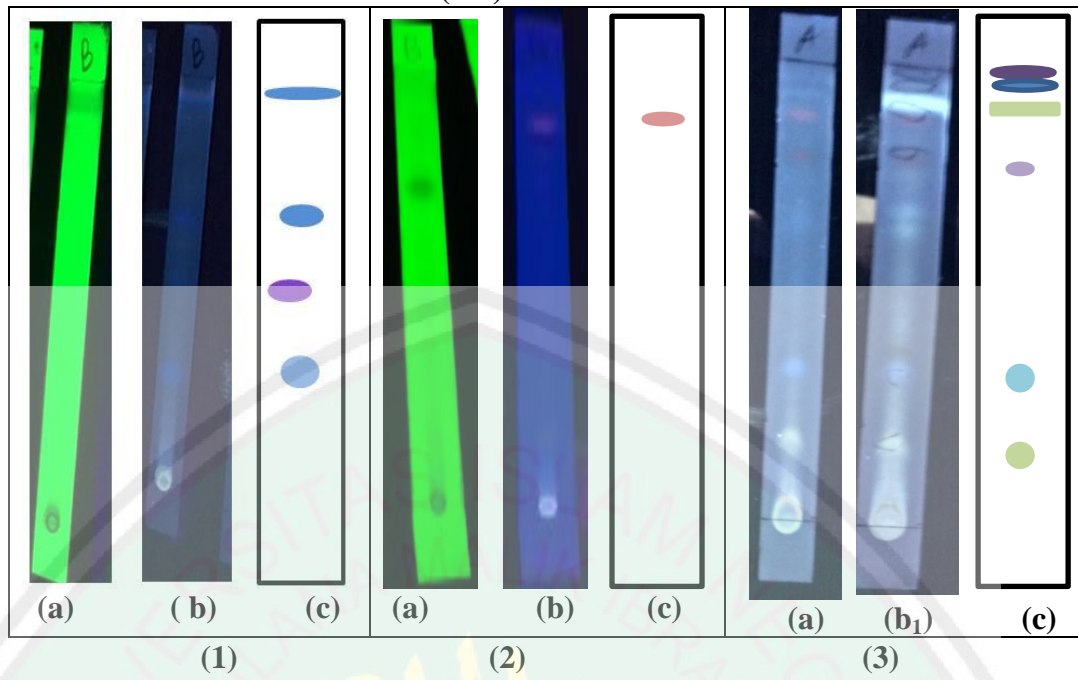


L.5.4.5 Triterpenoid/Steroid

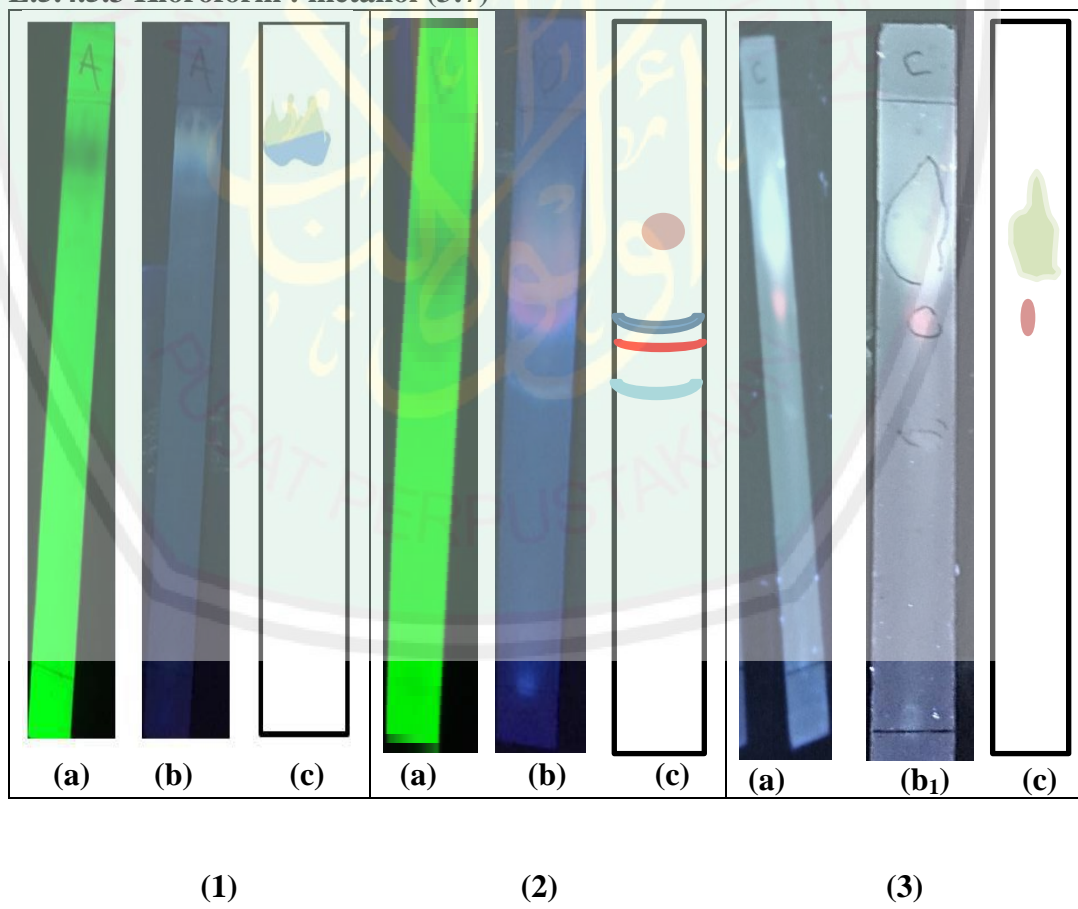
L.5.4.5.1 n-heksana : etil asetat (1:4)



L.5.4.5.2 n-heksana : etil asetat (7:3)



L.5.4.5.3 Kloroform : metanol (3:7)



Keterangan :

- a) Plat KLT pada lampu UV 254
- b) Plat KLT pada lampu UV 366 (sebelum disemprot)
- b₁) Setelah disemprot
- c) Ilustrasi Plat KLT pada lampu UV 366

- 1) Ekstrak Rimpang Kunyit putih
- 2) Ekstrak Buah Pare
- 3) Ekstrak Kombinasi B



Lampiran 6. Hasil Analisis SPSS Metode One Way ANOVA

L.6.1 Homogenitas Varian

Uji Homogenitas Variasi

IC₅₀

Levene statistic	df1	df2	Sig.
12.490	4	10	.001

L.6.2 ANOVA

IC₅₀

	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30480.233 ^a	4	7620.058	23.699	.000
Thin Groups	3215.367	10	321.537		
Corrected Total	33695.600	14			

L.6.3 Uji Post Hoc

Multiple Comparisons

IC₅₀

Tukey HSD

(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K:BP=7:1	K:P=3:1	8.06067	1.464096E1	.979	-40.12395	56.24528
	K:P=1:1	-5.53633	1.464096E1	.995	-53.72095	42.64828
	K:P=1:3	-70.96700*	1.464096E1	.005	-119.15161	-22.78239
	K:P=1:7	-105.13933*	1.464096E1	.000	-153.32395	-56.95472
K:BP=3:1	K:P=7:1	-8.06067	1.464096E1	.979	-56.24528	40.12395
	K:P=1:1	-13.59700	1.464096E1	.879	-61.78161	34.58761
	K:P=1:3	-79.02767*	1.464096E1	.002	-127.21228	-30.84305
	K:P=1:7	-113.20000*	1.464096E1	.000	-161.38461	-65.01539
K:BP=1:1	K:P=7:1	5.53633	1.464096E1	.995	-42.64828	53.72095

	K:P=3:1	13.59700	1.464096E1	.879	-34.58761	61.78161
	K:P=1:3	-65.43067*	1.464096E1	.008	-113.61528	-17.24605
	K:P=1:7	-99.60300*	1.464096E1	.000	-147.78761	-51.41839
K:BP=1:7	K:P=7:1	70.96700*	1.464096E1	.005	22.78239	119.15161
	K:P=3:1	79.02767*	1.464096E1	.002	30.84305	127.21228
	K:P=1:1	65.43067*	1.464096E1	.008	17.24605	113.61528
	K:P=1:7	-34.17233	1.464096E1	.211	-82.35695	14.01228
K:BP=1:7	K:P=7:1	105.13933*	1.464096E1	.000	56.95472	153.32395
	K:P=3:1	113.20000*	1.464096E1	.000	65.01539	161.38461
	K:P=1:1	99.60300*	1.464096E1	.000	51.41839	147.78761
	K:P=1:3	34.17233	1.464096E1	.211	-14.01228	82.35695

L.6.4 Homogenous Subset

IC₅₀

Tukey HSD

Ekstrak	N	Subset		
		1	2	3
K:BP=3:1	3	6.84997E1		
K:BP=7:1	3	7.65603E1		
K:BP=1:1	3	8.20967E1		
K:BP=1:3	3		1.47527E2	
K:BP=1:7	3			1.81700E2
Sig.		.396	1.000	1.000

Keterangan : Hasil SPSS ini notasi untuk tiap kolom dibalik karena nilai rata-rata paling rendah adalah hasil aktivitas yang paling baik.