



**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
ETANOL DAN FRAKSI JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var.  
Rubrum) DENGAN METODE CUPRAC**

**SKRIPSI**

Oleh

**ZUMATUL AMILIN**

**NIM 142210101068**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
ETANOL DAN FRAKSI JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var.  
Rubrum) DENGAN METODE CUPRAC**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**ZUMATUL AMILIN**

**NIM 142210101068**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan serta limpahan kasih-Nya memberikan kemudahan, memberikan arti dan kekuatan hidup dan Nabi Muhammad SAW sebagai panutan hidup;
2. Ibunda Istiqomah, dan Ayahanda Suwono tercinta yang telah memberikan do'a dan dukungan tanpa henti;
3. Saudara Kak Zin, Mbak Fris, Mbak Weny, Markonang dan Sarimbit yang selalu menjadi penyemangat dan motivasi penulis;
4. Guru-guruku yang telah memberikan ilmu untuk mengarungi kehidupan ini;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

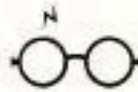
**MOTTO**

اٰخِرُصْنِ عَلٰى مَا يَنْفَعُكَ وَاَسْتَعِنُ بِاللّٰهِ وَلَا تَعْجِزْ

*“Bersemangatlah melakukan hal yang bermanfaat untukmu dan meminta tolonglah pada Allah, serta janganlah engkau malas”*

(HR. Muslim)

*“The world isn't split into good people and Death Eaters. We've all got both light and dark inside us. What matters is the part we choose to act on. That's who we really are.”*



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zumatul Amilin

NIM : 142210101068

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dengan Metode CUPRAC” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 April 2018  
Yang menyatakan,

Zumatul Amilin  
NIM 142210101068

**SKRIPSI**

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN  
FRAKSI JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) DENGAN  
METODE CUPRAC**

Oleh

Zumatul Amilin

NIM 142210101068

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S. Farm., M. Farm., Apt.

**PENGESAHAN**

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dengan Metode CUPRAC” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 18 April 2018

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Sc., Apt.

Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc, MSc-res, PhD., Apt.

NIP 198504282009121004

NIP 197807212003121001

Anggota II,

Anggota III,

Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.

Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP 198204062006042001

NIP 198712082014042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt.

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

**Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dengan Metode CUPRAC; Zumatul Amilin, 142210101068; 2018; 83 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.**

Radikal bebas merupakan senyawa atau molekul yang memiliki elektron bebas atau tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron bebas tersebut menyebabkan senyawa tersebut menjadi sangat reaktif dalam mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya seperti lipid, protein maupun DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*) sehingga dapat menimbulkan penurunan fungsi sel pada tubuh. Jika penurunan fungsi sel terjadi di sel jantung maka dapat menyebabkan penyakit seperti jantung koroner, jika terjadi di sel pankreas menyebabkan penyakit diabetes, dan jika terjadi pada sel hati dapat menyebabkan penyakit hati. Antioksidan merupakan suatu agen yang dapat digunakan untuk mencegah dan memperbaiki kerusakan tubuh akibat radikal bebas. Radikal bebas di dalam tubuh dapat dinetralisir dengan pertahanan endogen, namun tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah besar, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih, maka tubuh membutuhkan suplai antioksidan dari luar (eksogen).

Jahe merah merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi terhadap aktivitas antioksidannya. Dalam jahe merah terdapat senyawa oleoresin termasuk komponen polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi. Kandungan senyawa oleoresin jahe merah tersebut berkaitan dengan aktivitas farmakologi pada kandungan gingerol dan shogaol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan ( $EC_{50}$ ) ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, residu ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) serta untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna aktivitas antioksidan ekstrak etanol jahe merah dan fraksinya.

Tahapan penelitian yang pertama yaitu persiapan sampel, kemudian pembuatan simplisia jahe merah dilanjutkan dengan ekstraksi dengan metode



maserasi setelah itu dilakukan fraksinasi bertingkat, sehingga didapat fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, n-butanol dan residu. Ekstrak dan fraksi tersebut dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode CUPRAC dengan vitamin C sebagai kontrol positif sehingga didapat nilai  $EC_{50}$ . Analisis data dilakukan dengan menggunakan *one way anova* jika data yang dihasilkan normal dan homogen kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* (LSD). Aktivitas antioksidan sampel baik ekstrak etanol jahe dan fraksinya akan diuji korelasinya dengan menggunakan regresi linier.

Hasil penelitian ini menunjukkan, persen rendemen yang diperoleh dari ekstraksi dengan maserasi yaitu 8,51%, sedangkan hasil rendemen fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, n-butanol dan residu secara berturut-turut yaitu 20,81%; 24,74%; 2,82%; 17,99%, dan 31,55%. Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas antioksidan sampel baik ekstrak maupun fraksi rata-rata menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi yang ditandai dengan semakin rendahnya nilai  $EC_{50}$ . Secara berturut-turut nilai  $EC_{50}$  ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, n-butanol dan residu yaitu  $5,37 \pm 0,21$  ppm;  $6,92 \pm 0,22$  ppm;  $4,68 \pm 0,07$  ppm;  $4,07 \pm 0,06$  ppm;  $16,62 \pm 0,49$  ppm;  $49,99 \pm 0,24$  ppm.

Hasil uji statistik menunjukkan data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi  $\geq 0,01$ , kemudian dilanjutkan dengan uji *one way Anova* dan *post hoc* (LSD). Hasil uji *one way Anova* dan *post hoc* (LSD) menunjukkan nilai signifikansi  $\leq 0,01$  dengan taraf kepercayaan 99% sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan signifikan aktivitas antioksidan sampel ekstrak etanol jahe dan fraksinya.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dengan Metode CUPRAC”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kami karunia kehidupan sehingga kami dapat menyelesaikan tulisan kami.
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Bapak Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Sc., Apt., dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Bu Fifteen Aprilia Fajrin, S. Farm., M. Farm., Apt., selaku Dosen Pembimbing Proyek yang telah meluangkan kesempatan, waktu, pikiran, tenaga serta perhatian untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesainya penelitian ini;
6. Bapak Ari Satia Nugraha, S. F., GdipSc, M.Sc-Res, Ph.D., Apt. dan Ibu Dewi Dianasari, S.Farm., M. Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
7. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi banyak ilmu, berbagi pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang telah diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;

8. Laboran Bu Wayan dan Mbak Hanny di Laboratorium Kimia Analisis yang telah membantu kesuksesan penelitian ini;
9. Ibunda Istiqomah dan Ayahanda Suwono tercinta yang telah memberikan doa dan dukungan tanpa henti, serta “SUWONO SQUAD” yang selalu menjadi penyemangat dan motivasi penulis;
10. Mas Bayu Sanjaya, yang dengan sabar dan ikhlas atas semua waktu, ilmu, motivasi, semangat selama berkuliah di Farmasi yang hebat ini;
11. Kelompok Jahe-Jahean Firdha, Tsulsi, Jamal untuk semua dukungan, sharing ilmu, dan kebersamaan di saat bahagia ataupun susah;
12. Sahabat “NDQ” Firdha, Vinsen yang selalu memberikan motivasi, semangat, suka-duka, segalanya dalam perkuliahan dan proses penyelesaian tugas akhir ini;
13. Sahabat se-Keresidenan Yanti yang selalu memberikan semangat, motivasi sejak Maba sampai proses penyelesaian tugas akhir ini;
14. Sahabat-sahabat terbaik yang selalu membantu dalam susah senang Mellda, Yuvi, Tari, Ninik, Agus, Kos Gatot “Ipir-Ipir”;
15. Teman satu atap selama sebulan lebih “KKN 36 Gebang” mas dhimas, febli, dodo, hani, ijul, amal, nindi, sonia, terima kasih sudah membantu merajang jahe di posko ☺”;
16. Keluarga besar Pharmagen Fakultas Farmasi UNEJ 2014 yang telah berjuang bersama untuk mewujudkan cita-cita;
17. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, 18 April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN .....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA .....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
DAFTAR ISTILAH .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Tinjauan Umum Radikal Bebas .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Tinjauan Umum Antioksidan .....</b>	<b>5</b>
2.2.1 Deskripsi Tentang Antioksidan.....	5
2.2.2 Tinjauan Metode Uji Aktivitas Antioksidan CUPRAC .....	6
2.2.3 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan .....	8
<b>2.3 Tanaman Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubrum</i>).....</b>	<b>10</b>
2.3.1 Klasifikasi Jahe Merah ( <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubrum</i> ) .....	10
2.3.2 Deskripsi Tanaman Jahe Merah.....	11

2.3.3 Kandungan Kimia Tanaman Jahe Merah.....	11
2.3.4 Penelitian Jahe Merah .....	12
<b>2.4 Tinjauan Umum Ekstraksi dan Fraksinasi .....</b>	<b>13</b>
<b>2.5 Tinjauan Umum Metode Spektrofotometri UV-Vis .....</b>	<b>14</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>17</b>
<b>3.3 Variabel Penelitian.....</b>	<b>17</b>
3.3.1 Variabel bebas.....	17
3.3.2 Variabel terikat.....	17
3.3.3 Variabel Terkendali.....	17
<b>3.4 Bahan dan Alat.....</b>	<b>17</b>
3.4.1 Bahan .....	17
3.4.2 Alat.....	18
<b>3.5 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>18</b>
3.5.1 Rancangan Percobaan .....	18
3.5.2 Alur Penelitian .....	19
<b>3.6 Pembuatan Simplisia .....</b>	<b>20</b>
<b>3.7 Pembuatan Ekstrak .....</b>	<b>20</b>
<b>3.8 Fraksinasi dengan Corong Pisah .....</b>	<b>20</b>
<b>3.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC .....</b>	<b>22</b>
3.9.1 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak dan Fraksi .....	22
3.9.2 Pembuatan Larutan Reagen CUPRAC.....	22
3.9.3 Pembuatan Larutan Vitamin C .....	22
3.9.4 Penentuan Waktu Inkubasi .....	22
3.9.5 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum CUPRAC dan Vitamin C .....	22
3.9.6 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Ekstrak dan Fraksi	23
3.9.7 Perhitungan .....	23
3.9.8 Analisis Data .....	23
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>

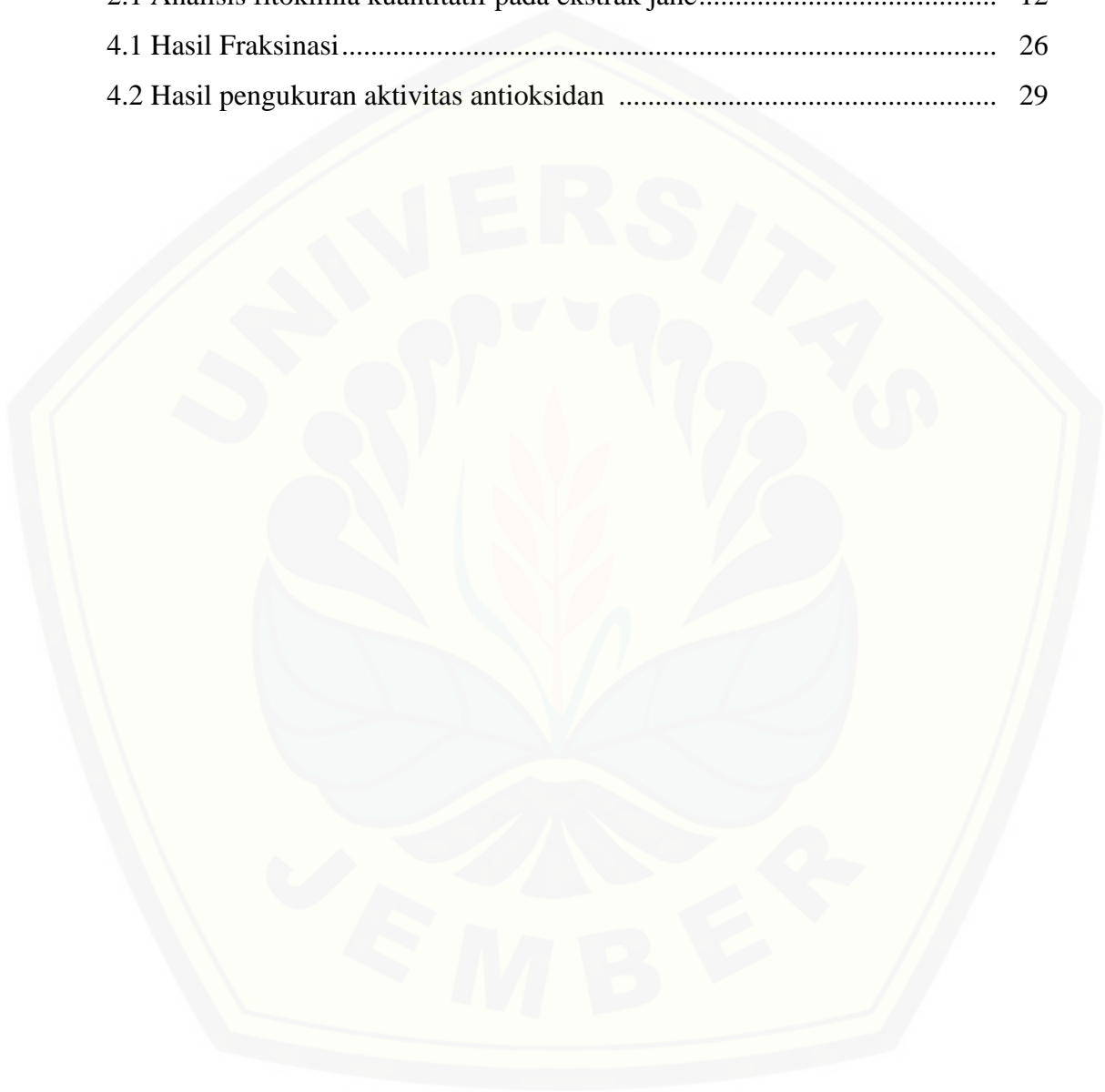
<b>4.1 Pembuatan Simplisia .....</b>	<b>24</b>
<b>4.2 Ekstraksi Bahan .....</b>	<b>25</b>
<b>4.3 Fraksinasi Ekstrak Etanol Jahe.....</b>	<b>25</b>
<b>4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan .....</b>	<b>26</b>
4.4.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum .....	26
4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi .....	27
4.4.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan .....	28
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>32</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>32</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>32</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>39</b>

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Reaksi reduksi kompleks tembaga (II) pada metode CUPRAC .....	7
2.2 Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan .....	8
2.3 Tanaman Jahe Merah ( <i>Zingiber officinale</i> var. Rubrum) .....	10
3.1 Alur penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol jahe merah dan fraksinya dengan Metode CUPRAC .....	19
3.2 Alur fraksinasi ekstrak jahe merah .....	21
4.1 Spektra larutan CUPRAC .....	27
4.2 Hubungan antara waktu dan absorbansi.....	28
4.3 Reaksi reagen CUPRAC dengan sampel .....	29

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Analisis fitokimia kuantitatif pada ekstrak jahe.....	12
4.1 Hasil Fraksinasi.....	26
4.2 Hasil pengukuran aktivitas antioksidan .....	29





**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Surat identifikasi tanaman .....	39
B. Perhitungan % rendemen ekstrak dan fraksi .....	40
C. Gambar ekstrak etanol jahe merah dan fraksinya.....	41
D. Penentuan panjang gelombang maksimum CUPRAC dan waktu inkubasi	42
E. Perhitungan bahan pengujian aktivitas antioksidan .....	46
F. Gambar pengujian aktivitas antioksidan .....	57
G. Perhitungan % kapasitas dan EC <sub>50</sub> .....	58
H. Hasil uji Anova dan LSD .....	61

**DAFTAR ISTILAH**

<b>ABTS</b>	: <i>3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid</i>
<b>AOX</b>	: Antioksidan
<b>CUPRAC</b>	: <i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i>
<b>DNA</b>	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
<b>DPPH</b>	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
<b>EC<sub>50</sub></b>	: <i>50% Effective Concentration</i>
<b>FRAP</b>	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
<b>GSH-Px</b>	: Glutation Peroksidase
<b>IL-10</b>	: Interleukin-10
<b>iNOS</b>	: <i>inducible Nitrit Oxide Synthase</i>
<b>NF-k B</b>	: <i>Nuclear Factor-k B</i>
<b>NO</b>	: <i>Nitrit Oxide</i>
<b>ORAC</b>	: <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
<b>PGE<sub>2</sub></b>	: Prostaglandin
<b>SGOT</b>	: <i>Serum Glutamic Oxalocetic Transaminase</i>
<b>SGPT</b>	: <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>
<b>SOD</b>	: Superoksida Dismutase
<b>TAC</b>	: <i>Total Antioxidant Capacity</i>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: <i>Tumor Necrosis Factor - <math>\alpha</math></i>
<b>TPTZ</b>	: <i>2,4,6-tripyridyls-triazine</i>

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan senyawa atau molekul yang memiliki elektron bebas atau tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron bebas tersebut menyebabkan senyawa tersebut menjadi sangat reaktif dalam mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya seperti lipid, protein maupun DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*) (Winarsi, 2007). Proses reduksi oksigen dalam rangkaian transpor elektron di sel merupakan salah satu awal kejadian yang berpotensi untuk menghasilkan radikal bebas. Akibat sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka dapat menimbulkan kerusakan di berbagai sel makhluk hidup (Muhilal, 1991). Kerusakan tersebut menyebabkan turunya fungsi sel, jika penurunan fungsi sel terjadi di sel jantung maka dapat menyebabkan penyakit seperti jantung koroner, jika terjadi di sel pankreas menyebabkan penyakit diabetes, dan jika terjadi pada sel hati dapat menyebabkan penyakit hati (Winarsi, 2007).

Antioksidan merupakan suatu agen yang dapat digunakan untuk mencegah dan memperbaiki kerusakan tubuh akibat radikal bebas (Setiawan, 2005). Antioksidan mampu melakukan penghambatan terhadap reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007). Radikal bebas di dalam tubuh dapat dinetralisir dengan pertahanan endogen (Werdhasari, 2014), namun tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah besar, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih, maka tubuh membutuhkan suplai antioksidan dari luar (eksogen) (Setiawan, 2005). Dengan mengkonsumsi antioksidan dalam jumlah yang cukup, maka dapat menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif akibat stres oksidatif (Winarsi, 2007). Antioksidan yang terkandung dalam berbagai bahan alami asli Indonesia diperlukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif terjangkau (Werdhasari, 2014).

Jahe merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi terhadap aktivitas antioksidannya (Bellik, 2014). Terdapat tiga jenis jahe yang ada di Indonesia yaitu

jahe gajah, jahe emprit dan jahe merah. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Oboh (2012) jahe merah memiliki komponen fenol dan flavonoid yang lebih tinggi. Komponen fenol dan flavonoid dapat melindungi tubuh manusia dari paparan radikal bebas. Oleoresin merupakan senyawa yang termasuk ke dalam golongan non volatil fenol, senyawa tersebut berkaitan dengan aktivitas farmakologi pada kandungan gingerol dan shogaol (Semwal *et al.*, 2015). Senyawa oleoresin pada jahe (*Zingiber officinale*) terbukti memiliki aktivitas antioksidan pada pengujian dengan menggunakan metode ABTS (*3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid*).

Pada penelitian ini akan dilakukan penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai  $EC_{50}$  (*50% effective concentration*) ekstrak etanol dan fraksi hasil partisinya pada rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dengan metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*). Pada uji antioksidan metode CUPRAC, reagen Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-(Nc)<sub>2</sub>) digunakan sebagai agen pengoksidasi kromogenik karena reduksi ion Cu(II) dapat diukur. Metode pengujian antioksidan dengan menggunakan metode CUPRAC memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan metode pengukuran antioksidan yang lain. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi selektif, reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat diakses dari reagen kromogenik lainnya (misalnya ABTS, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Apak *et al.*, 2007).

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah dijabarkan, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah:

1. Berapakah nilai aktivitas antioksidan ( $EC_{50}$ ) ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, residu ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ( $EC_{50}$ ) antara ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, residu ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui nilai aktivitas antioksidan ( $EC_{50}$ ) ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, residu ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum).
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ( $EC_{50}$ ) antara ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, residu ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum).

### 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Memberikan informasi nilai aktivitas antioksidan ( $EC_{50}$ ) yang paling tinggi dari ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, fraksi metanol residu ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dengan metode CUPRAC.
2. Sebagai penelitian awal mengenai salah satu terapi antioksidan pada jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) untuk penyakit degeneratif akibat stres oksidatif.
3. Bagi mahasiswa yang melakukan penelitian dapat mengasah kemampuan aktivitas dan keahlian di bidang kimia medisinal dan penemuan obat baru.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Umum Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul dengan elektron yang tidak berpasangan, tidak stabil dan bereaksi cepat dengan senyawa lain serta berusaha menangkap elektron untuk memperoleh stabilitas (Sarma *et al.*, 2010). Radikal bebas dapat terbentuk oleh adanya oksigen yang sangat reaktif dan juga oksidasi pada protein, lemak, dan unsur lain dalam tubuh. Adanya pengaruh lingkungan seperti produk samping dari industri plastik, ozon atmosfer, asap knalpot kendaraan, dan asap rokok. Kerusakan sel akibat radikal bebas tampaknya menjadi kontributor utama pada terjadinya penuaan (Percival, 1998) dan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, katarak, penurunan sistem kekebalan tubuh, dan disfungsi otak (Tambayong, 2000).

Secara teoritis, radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen. Radikal bebas dianggap berbahaya karena sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya dan dapat terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya, oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka apabila terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan kerusakan di bagian sel (Muhilal, 1991).

Radikal bebas berupa peroksil anion bereaksi dengan proton ( $2H^+$ ) yang membentuk hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida juga dapat terbentuk dari air ( $H_2O$ ) yang terkena radiasi. Adanya keberadaan zat lain hidrogen peroksida tersebut mengalami serangkaian reaksi sehingga terbentuk radikal yang sangat reaktif yaitu hidroksil (OH). Masa waktu paruh radikal bebas tersebut sangat pendek namun tetap mempunyai potensi besar yang dapat merusak sel (Winarsi, 2007).

Di dalam tubuh, secara terus-menerus radikal bebas terbentuk melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar yakni polusi udara, ultraviolet, asap rokok dan lain-lain. Dengan meningkatnya usia seseorang dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas.

Karena usia yang semakin bertambah, maka sel-sel tubuh mengalami degenerasi, terganggunya proses metabolisme dan menurunnya respon imun. Antioksidan diperlukan untuk meredam radikal bebas yang berdampak negatif tersebut (Winarsi, 2007). Menurut Muhilal (1991), di dalam tubuh sebenarnya terdapat mekanisme untuk menangkal radikal bebas selama zat untuk menangkal tersebut masih tersedia. Namun dengan sendirinya penangkalan radikal bebas mungkin tidak pernah terjadi 100%. Belum pernah ada yang secara pasti menduga berapa persen maksimal radikal bebas yang dapat dinetralisir dalam tubuh.

Radikal bebas dapat dikendalikan secara alami oleh berbagai senyawa bermanfaat yang dikenal sebagai antioksidan. Jika jumlah antioksidan terbatas, maka kerusakan dapat menjadi kumulatif dan melemahkan fungsi sel-sel tubuh. Pada serangan awal, radikal bebas dapat dinetralkan tetapi radikal bebas yang lain yang terbentuk dalam proses dapat menyebabkan terjadinya reaksi berantai (Percival, 1998).

## **2.2 Tinjauan Umum Antioksidan**

### **2.2.1 Deskripsi Tentang Antioksidan**

Menurut Winarsi (2007) antioksidan adalah agen yang mampu mencegah dan memperbaiki kerusakan tubuh akibat radikal bebas. Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan merupakan senyawa yang dapat memberikan elektron (*electron donors*) atau reduktan. Secara biologis, antioksidan merupakan senyawa dimana dampak negatif oksidan dalam tubuh dapat ditangkal atau diredam. Antioksidan tersebut bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat.

Secara umum, pengelompokan antioksidan ada dua yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antoksidan enzimatis yaitu superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutation peroksidase (Winarsi, 2007). Antioksidan non-enzimatis menurut Winarsi (2007) dibagi menjadi dua yaitu:

- a. Antioksidan larut air, yaitu: asam askorbat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

- b. Antioksidan larut lemak, yaitu : tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin.

Baik antioksidan enzimatis dan antioksidan non-enzimatis masing-masing bekerja sama dalam memerangi aktivitas senyawa oksidan dalam tubuh. Berdasarkan mekanisme kerjanya, penggolongan antioksidan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier (Inggrid dan Santoso, 2014).

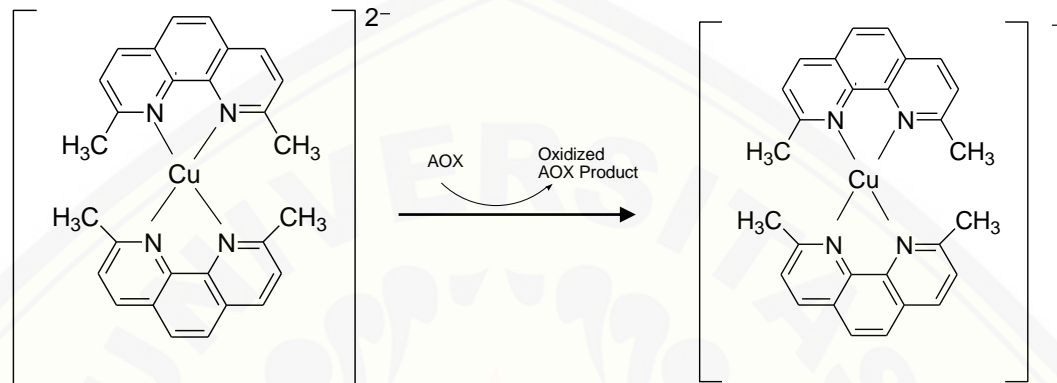
Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Antioksidan tersebut juga disebut sebagai antioksidan enzimatis. Antioksidan primer bekerja dengan mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif (Inggrid dan Santoso, 2014). Antioksidan sekunder atau disebut juga sebagai antioksidan non-enzimatis disebut sebagai pertahanan preventif, senyawa oksigen reaktif yang terbentuk akan dihambat dengan cara pengkelatan metal atau dirusak pembentukannya yang terjadi dalam cairan ekstraseluler (Inggrid dan Santoso, 2014). Antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-*repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Fungsi enzim-enzim tersebut yaitu memperbaiki biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas (Winarsi, 2007). Antioksidan berasal dari tubuh (endogen) tidak mencukupi untuk melawan radikal bebas didalam tubuh, oleh karena itu setiap manusia membutuhkan tambahan antioksidan dari luar tubuh sehingga mengurangi kapasitas radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan (Soltani dan Baharara, 2014).

#### 2.2.2 Tinjauan Metode Uji Aktivitas Antioksidan CUPRAC

Metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) pertama kali dikembangkan sebagai spektrofotometri pengujian TAC (*Total Antioxidant Capacity*) yang ruang lingkupnya telah diperluas dengan beberapa modifikasi. Karena kemampuan pengurangan ion cuprum pada pengukuran antioksidan polifenol dan plasma, maka disebut sebagai metode "*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*" (CUPRAC) (Apak *et al.*, 2007).



Menurut Apak (2005) prinsip dari uji CUPRAC yaitu menggunakan bis(neokuproin) tembaga(II) ( $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ ) sebagai pereaksi kromogenik yang bereaksi dengan antioksidan (AOX) reduktan n-elektron. Pereaksi  $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$  yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi  $\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$  yang berwarna kuning (Gambar 2.2).



Gambar 2.1 Reaksi reduksi kompleks tembaga (II) pada metode CUPRAC (Ozyurek *et al.*, 2011)

Kelebihan pengukuran antioksidan menggunakan CUPRAC adalah reagen CUPRAC cukup cepat untuk mengoksidasi tiol jenis antioksidan, pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi selektif karena potensial redoksnya lebih rendah. Reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat diakses dari kromogenik lainnya (misal ABTS, DPPH). Selain mudah, metode CUPRAC juga berlaku di laboratorium konvensional menggunakan standar kolorimeter tidak memerlukan peralatan yang canggih dan operator yang memenuhi syarat (Maryam *et al.*, 2016).

Reagen dari CUPRAC adalah tembaga klorida yang dikombinasi dengan neokuproin pada dapar amonium asetat pada pH 7. Kompleks Cu(I)-neokuproin yang memberikan warna kuning. Intensitas kuning akan tergantung pada jumlah Cu(II) yang tereduksi menjadi Cu(I). Jika sampel mereduksi Cu(II) menjadi Cu(I) maka dalam waktu yang bersamaan sampel akan teroksidasi sehingga sampel dapat bertindak sebagai antioksidan. Potensial redoks dari sampel merupakan faktor penting pada pengujian CUPRAC. Sampel akan teroksidasi jika memiliki potensial reduksi kurang dari potensial reduksi dari  $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$  0,6 V (Ozyurek, 2011).

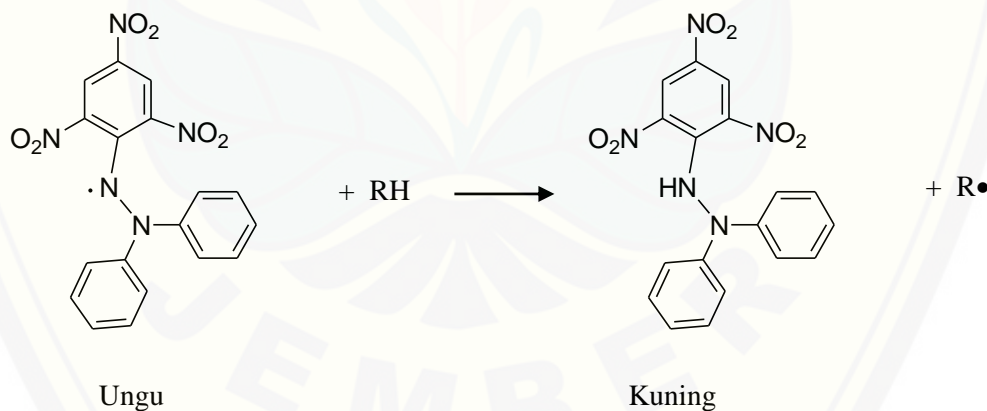
EC<sub>50</sub> dari kapasitas CUPRAC adalah konsentrasi dari sampel atau standar yang dapat menunjukkan efektivitas 50% kapasitas CUPRAC. Semakin rendah nilai EC<sub>50</sub> maka akan memiliki kapasitas antioksidan paling tinggi. EC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm merupakan antioksidan yang sangat kuat, 50-100 ppm merupakan antioksidan kuat, 101-150 ppm merupakan antioksidan sedang, lebih dari 150 ppm antioksidan yang lemah (Fidrianny *et al.*, 2015).

### 2.2.3 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

Dalam menentukan aktivitas antioksidan secara *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa metode sebagai berikut, antara lain :

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

Metode aktivitas antioksidan yang menggunakan radikal bebas stabil DPPH. Dalam metode ini DPPH bertindak sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji. DPPH akan ditangkap oleh antioksidan melalui donasi atom hidrogen dari antioksidan sehingga membentuk DPPH-H (Molyneux, 2004). Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.2 Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan

Perubahan warna dari reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dapat diukur dengan spektrofotometer vis pada panjang gelombang 515-520 nm pada pelarut organik (metanol atau etanol). Kekurangan metode ini adalah reagen yang tidak stabil oleh cahaya sehingga memerlukan preparasi pada tempat kurang cahaya (Molyneux, 2004).

b. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Pengukuran antioksidan dengan metode FRAP didasarkan pada transfer elektron. Oksidan yang digunakan adalah probe terdiri dari garam besi, Fe(III) (TPTZ) (*2,4,6-tripyridyls-triazine*). Metode FRAP mengukur kemampuan mereduksi *ferric 2,4,6-tripyridyls-triazine* (TPTZ) menjadi produk berwarna dengan mendeteksi senyawa dengan potensial redoks kurang dari 0,7 V (potensial redoks  $F^{3+}$ -TPTZ). Kekurangan metode FRAP sangat bervariasi tergantung pada skala waktu analisis, tidak relevan untuk mengukur aktivitas antioksidan secara mekanis dan fisiologis karena FRAP tidak mengukur antioksidan tiol seperti *glutathione* (Teow, 2005).

c. Metode ABTS 2,2'-azinois (*3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid*)

Metode ABTS menggunakan senyawa 2,2'-azinois (*3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid*) sebagai sumber penghasil radikal bebas. Metode ini mengukur kemampuan antioksidan untuk meredam  $ABTS^+$  yang dihasilkan dalam fase air, hasilnya dibandingkan dengan pembanding trolox (analog vitamin E larut air). Kapasitas antioksidan pada metode ini diuji dengan larutan ABTS yang direaksikan dengan senyawa uji sehingga menghasilkan penurunan warna larutan.  $ABTS^+$  dihasilkan dengan mereaksikan garam ABTS dengan agen pengoksidasi kuat seperti potasium permanganat atau potasium persulfat dan terjadi penurunan warna hijau-biru radikal  $ABTS^+$ . Kekurangan dari metode ABTS adalah reproduksibilitasnya lebih jelek dibandingkan dengan metode DPPH, ABTS perlu disimpan pada tempat gelap selama 12 jam untuk membentuk radikal bebas dari garam ABTS dan radikal ABTS tidak ditemukan dalam sistem fisiologis mamalia sehingga mempresentasikan sumber radikal non-fisiologis (Prior *et al.*, 2005).

d. Metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Metode ORAC menggunakan senyawa radikal peroksil yang dihasilkan melalui larutan cair 2,2'-azois-2-metil-propanimida. Radikal peroksil akan bereaksi dengan antioksidan dan menghambat degradasi zat warna. Kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan peralatan yang mahal, waktu analisis yang lama

(>1 jam) dan reproduibilitasnya jelek karena reaksi ORAC sensitif dengan suhu (Prior *at al.*, 2005).

### 2.3 Tanaman Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. **Rubrum**)

#### 2.3.1 Klasifikasi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum)

Berdasarkan ITIS dan *Arctose Database* 2017 sistematika jahe merah (Gambar 2.3) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermathophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Lilianae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i>
Varietas	: <i>Zingiber officinale</i> varietas Rubrum



Gambar 2.3 Tanaman Jahe Merah (healthylives.ga)

### 2.3.2 Deskripsi Tanaman Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Jahe merah mempunyai batang bulat kecil, warna hijau kemerahan dan sedikit keras yang diselubungi oleh pelepah daun. Tinggi tanaman jahe merah ini bisa mencapai 34,18-62,28 cm. Bentuk susunan daun yang berselang-seling secara teratur dengan warna yang lebih hijau (gelap) dan pucat pada bagian bawah dengan tulang daun yang terlihat jelas dan sejajar (Ajjiah *et al.*, 1997). Luas daun yang dimiliki jahe merah 32,55-51,18 cm<sup>2</sup> dengan panjang 24,30-24,79 cm; lebar 2,79-31,18 cm (Herlina *et al.*, 2002).

Rimpang pada jahe merah memiliki kulit yang berwarna merah hingga jingga muda. Panjang rimpang 12,33-12,60 cm dengan tinggi yang dapat mencapai 5,86-7,03 cm dan berat rata-rata 0,29-1,17 kg. Akar berserat sedikit kasar dengan panjang 17,03-24,06 cm dan diameter akar mencapai 5,36-5,46 mm. Jahe merah memiliki aroma yang tajam dan rasanya sangat pedas (Herlina *et al.*, 2002).

### 2.3.3 Kandungan Kimia Tanaman Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Rimpang jahe secara umum mengandung komponen-komponen kimia seperti minyak menguap (*volatile oil*), minyak tidak menguap (*non volatile oil*) dan pati (Herlina *et al.*, 2002). Minyak atsiri termasuk jenis minyak menguap dan memberikan bau yang khas. Kandungan minyak yang tidak menguap disebut oleoresin yang merupakan komponen yang memberikan rasa pahit dan pedas (Herlina *et al.*, 2002). Rimpang jahe segar mengandung 9% lipid atau glikolipid dan minyak jahe sebanyak 3% dimana 20-25% dari minyak jahe merupakan oleoresin (Chrubasik *et al.*, 2005). Komposisi tersebut dapat bervariasi tergantung kondisi penanaman, kondisi jahe, iklim, cuaca, dan lain-lain (Vasala *et al.*, 2012).

Jahe merah memiliki kandungan pati (52,9%), minyak atsiri (3,9%) dan ekstrak yang larut dalam alkohol (9,93%) (Herlina *et al.*, 2002). Senyawa volatil pada rimpang jahe merah utamanya terdiri dari seskuiterpen hidrokrbon, yaitu zingiberen (53%), kurkumen (18%), farnesen (10%),  $\beta$ -bisabolen, dan  $\beta$ -seskuifelandren (Sivasothy *et al.*, 2011; Gupta dan Sharma, 2014). Senyawa non volatil terdiri dari gingerol, shogaol, gingediols, gingediaseat, gingerdion dan gingerenon (Kurniasari, 2013). Minyak jahe merah yang berasal dari rimpangnya didominasi oleh turunan monoterpen teroksigenasi (52,9%) yang utamanya terdiri

dari *E*-citral (21%),  $\beta$ -sitronelol (17,4%), *trans*-geraniol (6,9%), dan borneol (2,8%) (Herlina *et al.*, 2002; Sukari *et al.*, 2008). Menurut literatur Bhargava (2010), pada ekstrak jahe merah terdapat beberapa kandungan fitokimia yang ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Analisis fitokimia kuantitatif pada ekstrak jahe (Bhargava, 2012)

Bioaktif	Ekstrak Metanol	Ekstrak etanol
Alkaloid	+++	+++
Tanin	++	++
Glikosida	++	++
Saponin	+++	+++
Steroid	-	-
Flavonoid	++	++
Terpenoid	+	+

**Keterangan :** +++ sangat banyak, ++ cukup, + sedikit, - tidak ada

#### 2.3.4 Penelitian Jahe Merah

Dibandingkan dengan jahe emprit dan jahe gajah, jahe merah mempunyai kandungan senyawa aktif lebih tinggi (Hernani dan Hayani, 2001). Kandungan senyawa aktif jahe merah tersebut berkaitan dengan aktivitas farmakologi pada kandungan gingerol dan shogaol (Semwal *et al.*, 2015). Menurut Dugasani (2010) gingerol dalam jahe merah merupakan senyawa yang termolabil sehingga akan terkonversi dalam pemanasan menjadi shogaol. Shogaol tersebut akan memberikan aktivitas penghambatan terhadap iNOS, NO, PGE<sub>2</sub> dan sitokin (TNF- $\alpha$ , IL-10, NF- $\kappa$ B) secara *in vivo* dan *in vitro* lebih baik dibandingkan dengan senyawa gingerol.

Jahe dapat sebagai antilipemik yang dapat menurunkan lemak darah dan sebagai agen antioksidan untuk diabetes tipe 2 (Singh *et al.*, 2009). Ekstrak etanol jahe merah memiliki pengaruh terhadap jumlah sel makrofag, ulkus makrofag, ulkus traumatikus mukosa mulut akibat bahan kimiawi pada *Rattus norvegicus* (Hidayati, 2015). Selain ekstrak etanol, ekstrak metanol jahe merah juga memiliki aktivitas hepatoprotektif yaitu dapat menurunkan aktivitas SGPT-SGOT tikus yang diinduksi oleh CCl<sub>4</sub> (Bachri, 2011). Dalam aktivitas antioksidannya, ekstrak jahe merah dapat mempengaruhi terhadap perubahan pelebaran alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinhalasi dengan zat *allethrin* yang terkandung dalam obat nyamuk (Arobi, 2010).

#### 2.4 Tinjauan Umum Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak merupakan suatu sediaan cair, kental, atau kering yang dibuat dengan penyari yang sesuai diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Penyari yang digunakan adalah air, eter, etanol, ataupun campuran etanol dan metanol. Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau tidak berkhasiat atau zat-zat aktif dari tanaman ataupun hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Karena sel memiliki ketebalan yang berbeda, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraknya. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen yang terdapat dalam sel tumbuhan maupun hewan. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut yang terjadi mulai dari perpindahan pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Dirjen POM, 2000).

Ekstraksi bahan alam dapat dilakukan dengan ekstraksi secara panas dengan cara refluks, infus, dekok dan soxhlet sedangkan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi dan perkolasi (Dirjen POM, 2000). Metode yang sering digunakan adalah metode ekstraksi maserasi.

Ekstraksi dengan maserasi dilakukan dengan memasukkan 10 bagian simplisia ke dalam bejana, kemudian menuangi dengan penyari 75 bagian, menutup dan membiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil mengaduk sekali-kali tiap hari kemudian memfiltrasi dan ampas dilakukan maserasi ulang dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi (Dirjen POM, 2000).

Hasil ekstraksi awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Campuran senyawa tersebut sulit untuk dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Perlu dilakukan pemisahan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran yang sama (Mukhriani, 2014). Proses selanjutnya yaitu pemisahan menggunakan prinsip ekstraksi yang dikenal sebagai ekstraksi cair-cair atau fraksinasi. Menurut Harbone (1987) fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair, yang dilakukan bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Berdasarkan hukum *like dissolve like*, senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, senyawa semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan

senyawa yang bersifat polar akan larut ke dalam pelarut polar. Prinsip metode ini adalah didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling campur, seperti benzena, karbon tetraklorida atau kloroform. Teknik ini dapat digunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, pemisahan serta analisis pada skala kerja (Khopkar, 2010).

Ekstraksi cair-cair merupakan teknik pemisahan yang biasanya menggunakan corong pisah. Memasukkan antara dua pelarut yang tidak bercampur ke dalam corong pisah, kemudian digojok dan didiamkan. Pendistribusian solut atau senyawa organik terjadi ke dalam fase masing-masing yang tergantung pada kelarutan terhadap fase tersebut yang kemudian akan membentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan membuka kunci pipa corong pisah (Odugbemi, 2008).

Pelarut yang digunakan seperti petroleum eter, n-heksana, kloroform, dietil asetat, etil asetat dan etanol digunakan untuk mempartisi ekstrak berdasarkan peningkatan polaritas pelarut tersebut. Pemilihan pelarut biasanya tergantung pada sifat analitnya yaitu pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, seperti contoh analit yang memiliki lipofilisitas tinggi akan terkestraksi pada pelarut yang relatif nonpolar seperti n-heksana sedangkan untuk analit semipolar akan terlarut pada pelarut semipolar pula misalnya dengan etil asetat atau diklorometana (Odugbemi, 2008).

## **2.5 Tinjauan Umum Metode Spektrofotometri UV-Vis**

Prinsip metode pengukuran menggunakan spektrofotometri yaitu metode analisis kimia yang berdasarkan absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu melalui suatu larutan yang akan ditentukan konsentrasinya. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada panjang gelombang daerah ultraviolet (panjang gelombang 190-380 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 380-780) (Harmita, 2006).

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Salah satu syarat agar suatu zat atau senyawa dapat dianalisa secara spektrofotometri adalah senyawa tersebut memiliki gugus



kromofor. Gugus kromofor merupakan suatu gugus fungsional yang dapat mengabsorpsi radiasi ultraviolet dan tampak. Suatu gugus kromofor dapat memberikan serapan pada spektrum serapan yang dibuat adalah senyawa harus memiliki panjang gelombang lebih besar dari 190 nm dan daya serap molar ( $\epsilon_{\text{maks}}$ ) lebih besar dari 1000 agar konsentrasi yang digunakan tidak terlalu besar (Harmita, 2006).

Berdasarkan sifat materinya interaksi radiasi dengan suatu spesi dapat berupa penyerapan (absorpsi), pemendaran (luminensi), pancaran (emisi) dan penghamburan. Interaksi yang diamati pada spektrofotometri UV-Vis adalah absorpsi pada panjang gelombang tertentu di daerah UV-Vis (Huda, 2001).

Prinsip metode spektrofotometer yaitu berdasarkan hukum Lambert-Beer yang menyatakan hubungan antara banyaknya sinar yang diserap (absorban) sebanding dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmittan. Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam Persamaan 2.1 sebagai berikut:

$$A = -\log I/I_0 \text{ atau } A = a \cdot B \cdot c \dots\dots\dots (2.1)$$

Keterangan :

A = absorbansi

a = koefisien serapan molar

B = tebal media cuplikan yang dilewati sinar

c = konsentrasi larutan

$I_0$  = Intensitas sinar mula-mula

I = intensitas sinar yang diteruskan

Dari Persamaan diatas (2.1), dapat diaplikasikan dalam pengukuran kuantitatif dengan komparatif dengan membuat kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan standar dengan nilai absorbansinya. Konsentrasi larutan ditentukan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi larutan ke persamaan regresi kurva kalibrasi (Fatimah *et al.*, 2009). Analisa kualitatif yang perlu diperhatikan adalah membandingkan  $\lambda$  maksimum, serapan, daya serap dan spektrum serapannya (Harmita, 2006).

Beberapa pengujian yang menggunakan spektrofotometri UV-Vis yaitu uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Barki, 2016), CUPRAC (Fidrianny *et al.*, 2015), FRAP (Maryam, 2016) dan ABTS (Erel, 2004), penetapan kadar alkaloid (Maramis *et al.*, 2013), flavonoid (Widyastuti, 2010), fenol (Tursiman, 2012), dan uji penghambatan enzim (Lactheani, 2017).



## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *True Experimental Laboratories* yang merupakan penelitian yang dilakukan di laboratorium.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Waktu pelaksanaannya mulai November 2017 sampai April 2018.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak dan fraksi dari ekstrak etanol jahe merah.

#### 3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan EC<sub>50</sub>.

#### 3.3.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara ekstraksi, cara fraksinasi, dan cara pengujian aktivitas antioksidan.

### 3.4 Bahan dan Alat

#### 3.4.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jahe merah di daerah Kencong, Kabupaten Jember usia 10 bulan yang sudah diidentifikasi di Kebun Raya Purwodadi. Bahan untuk ekstraksi dan fraksinasi antara lain: etanol pa (Merck), n-heksana pa (Merck), n-butanol pa (Merck), kloroform pa (Merck), metanol pa (Merck) dan akuades. Bahan untuk pengukuran antioksidan antara lain:

*Neocuproin* (Sigma),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , amonium asetat dan akuades, serta Vitamin C sebagai standar.

#### 3.4.2 Alat

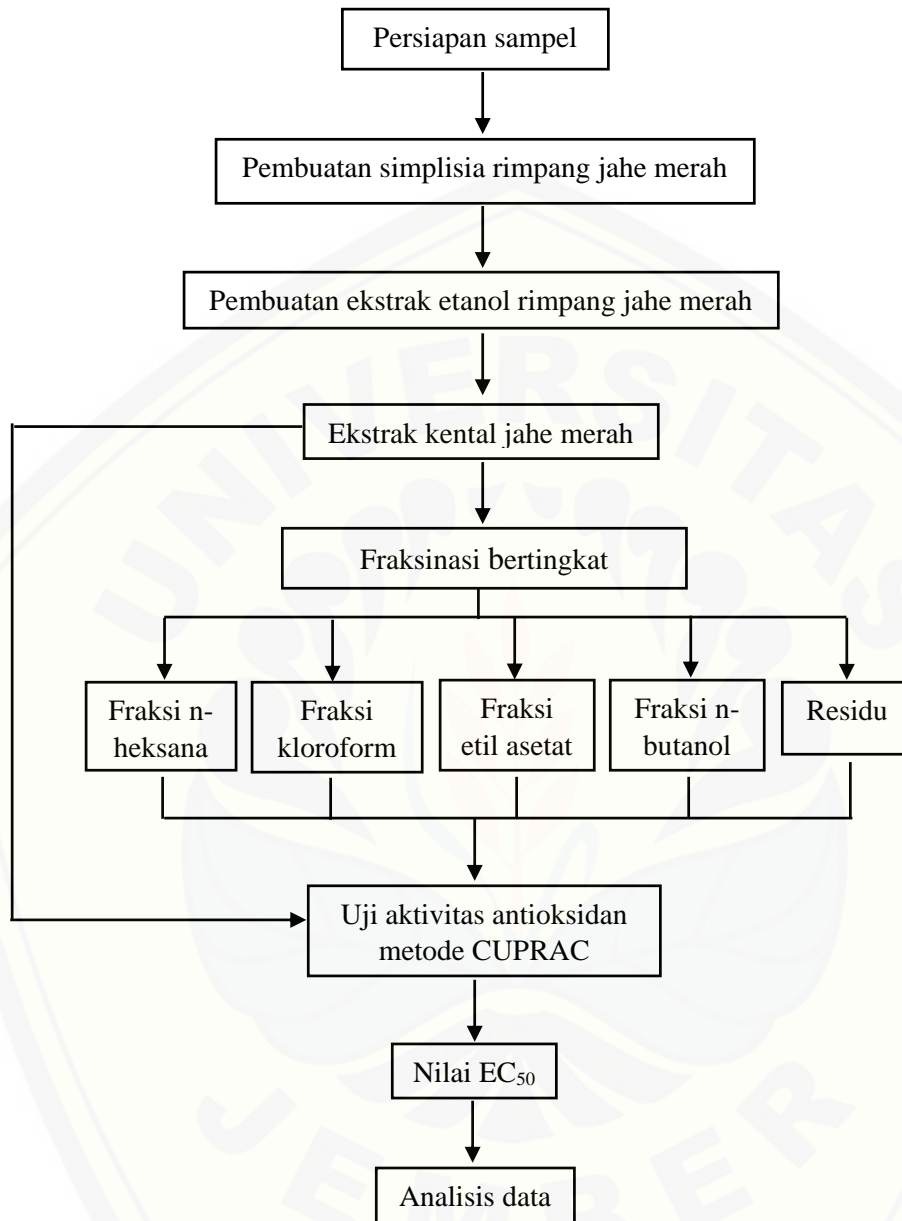
Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer Hitachi U-1800, *rotary evaporator*, mesin penggiling simplisia, wadah maserasi, gelas ekstrak, vial, corong buchner, corong pisah 250 mL, timbangan analitik Sartorius, spatula, kuvet plastik, *ultrasonic cleaner*, mikropipet (100  $\mu\text{l}$  dan 1000  $\mu\text{l}$ ), dan alat-alat gelas.

### 3.5 Rancangan Penelitian

#### 3.5.1 Rancangan percobaan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol jahe merah, fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan residu dari ekstrak etanol jahe merah. Tahap pertama adalah pengumpulan sampel rimpang jahe merah, tahap selanjutnya adalah pembuatan simplisia, kemudian dilakukan ekstraksi simplisia rimpang jahe merah dengan pelarut etanol sehingga diperoleh ekstrak rimpang jahe merah. Ekstrak dipekatkan dengan *rotary evapour* sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi dengan menggunakan pelarut air dan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, n-butanol dan metanol untuk mendapatkan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan residu, kemudian dilakukan penetapan aktivitas antioksidan ekstrak etanol jahe merah dan fraksinya (n-heksana, kloroform, etil asetat, n-butanol dan residu).

## 3.5.2 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol jahe merah dan fraksinya dengan Metode CUPRAC

### 3.6 Pembuatan Simplisia

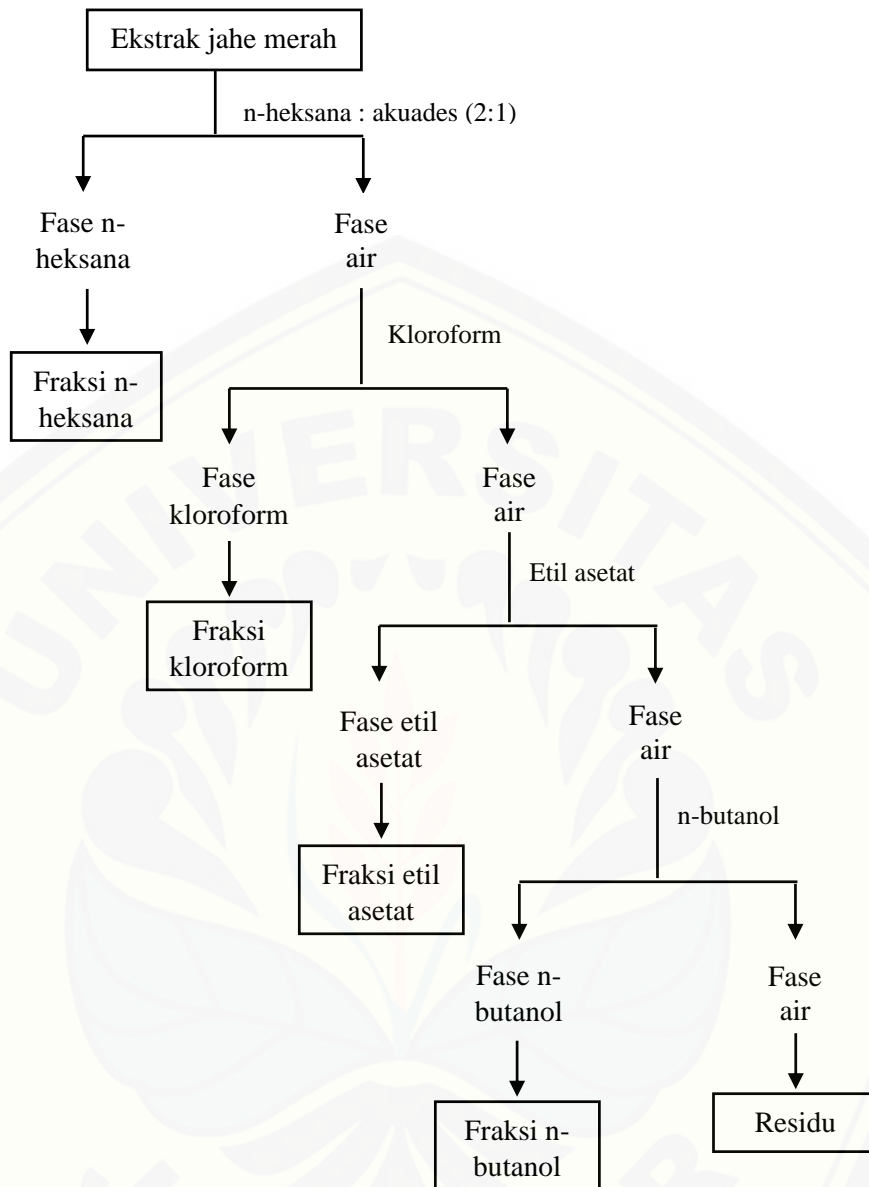
Rimpang jahe sebanyak 10 kg dibeli dari petani jahe merah di Kencong Kabupaten Jember. Jahe merah disortasi basah kemudian dicuci bersih dengan air mengalir setelah itu ditiriskan, kemudian dirajang dengan ketebalan kira-kira 3 mm (Almasyhuri, 2012) selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian disortasi kering. Simplisia dihaluskan dengan cara digiling menggunakan mesin penggiling sehingga diperoleh serbuk simplisia rimpang jahe merah.

### 3.7 Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% dengan perbandingan antara serbuk jahe merah dengan pelarut adalah 1 : 4 (1,5 kg dalam 6 liter etanol). Proses maserasi dilakukan selama 2 hari dengan pengadukan setiap harinya. Penyaringan menggunakan corong buchner. Filtrat ditampung sedangkan ampas serbuk dilakukan remaserasi. Filtrat yang ditampung tersebut dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk menghilangkan pelarut. Diperoleh ekstrak kental jahe merah.

### 3.8 Fraksinasi dengan Corong Pisah

Untuk mendapatkan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol jahe dilakukan fraksinasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, n-butanol dan metanol dengan cara ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dilarutkan dalam aquadest ad 75 mL kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah, perbandingan pelarut fraksinasi dengan pelarut air adalah 2 : 1 sehingga semua pelarut menggunakan volume 150 mL. Fraksi ditampung dan diletakkan di lemari asam kemudian dibiarkan untuk menguapkan pelarutnya. Setelah pelarut fraksi menguap, fraksi dipindahkan ke dalam vial dan ditimbang untuk menentukan rendemen.



Gambar 3.2 Alur fraksinasi ekstrak jahe merah

### 3.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC

#### 3.9.1 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak dan Fraksi

Ekstrak etanol jahe dan fraksi masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg dan 20 mg kemudian dilarutkan dalam metanol 10 mL sehingga konsentrasi larutan uji ekstrak diperoleh 1000 ppm dan 2000 ppm. Kemudian dibuat seri konsentrasi untuk masing-masing baik larutan uji ekstrak dan larutan uji fraksi yang bisa dilihat pada Lampiran E.

#### 3.9.2 Pembuatan Larutan Reagen CUPRAC

Larutan  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dengan konsentrasi 0,01 M dibuat dengan cara menimbang 0,4262 g, dilarutkan dalam 250 mL akuades. Dapar amonium asetat ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ) pH 7,0 dibuat dengan melarutkan 19,27 g amonium asetat ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ) dalam 250 mL akuades. Larutan neokuproin (Nc) pada konsentrasi 0,0075 M dibuat dengan melarutkan 0,039 g neokuproin dalam 25 mL etanol 96% (Apak *et al.*, 2004).

#### 3.9.3 Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a ad 25 mL sehingga didapatkan konsentrasi vitamin C sebesar 1000 ppm. Larutan dipipet dan dibuat menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 1 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm.

#### 3.9.4 Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan uji dengan konsentrasi vitamin C 10  $\mu\text{g/ml}$ , 500  $\mu\text{g/ml}$  ekstrak etanol dan fraksi jahe merah direaksikan dengan reagen CUPRAC dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

#### 3.9.5 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum CUPRAC dan Vitamin C

Dipipet sebanyak 0,5 mL sampel uji dengan konsentrasi tertentu dan vitamin C yang sudah ditambahkan dengan 1 mL  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 1 mL neokuproin, 1 mL dapar amonium asetat dan 0,6 mL akuades (volume total 4,1 mL) kemudian diinkubasi selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya yaitu 400-600 nm.



### 3.9.6 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Ekstrak dan Fraksi

Diambil 0,5 mL ekstrak dan fraksi pada berbagai konsentrasi kemudian ditambahkan dengan 1 mL  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M; 1 mL neokuproin etanolik 0,0075 M; 1 mL dapar amonium asetat pH 7 1 M; dan 0,6 mL akuades (total volume 4,1 mL). Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm. Aktivitas antioksidan diukur sebagai persen kapasitas sampel uji dihitung dengan menggunakan Persamaan 3.1.

$$\% \text{ Kapasitas} = (1 - T_s) \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : % kapasitas = % kapasitas CUPRAC

$A_s$  = Absorbansi sampel uji setelah penambahan larutan uji CUPRAC

$A_s = -\log T_s$

### 3.9.7 Perhitungan

Kurva regresi linier didapatkan dari perhitungan antara konsentrasi sampel vs % kapasitas CUPRAC.

$$y = a + bx \dots\dots\dots (3.2)$$

Keterangan :

$x$  = konsentrasi (ppm)

$y$  = presentase kapasitas (%)

Dari persamaan 3.2, nilai  $EC_{50}$  dapat dihitung menggunakan Persamaan 3.3 :

$$EC_{50} = (50 - A) : B \dots\dots\dots (3.3)$$

### 3.9.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penetapan aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi sampel serta vitamin C diuji statistik menggunakan *one way Anova* dengan syarat data yang diperoleh harus terdistribusi normal dan homogen kemudian dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Perbedaan dianggap bermakna apabila *p-value*  $\leq 0,01$  dengan tingkat kepercayaan sebesar 99%.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Nilai  $EC_{50}$  ekstrak etanol jahe merah dan fraksinya secara berurutan dari yang terkecil yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar yaitu fraksi etil asetat 4,074 ppm, diikuti oleh fraksi kloroform 4,675 ppm, ekstrak etanol 5,369 ppm, fraksi n-heksana 6,914 ppm, fraksi n-butanol 16,619 ppm dan residu 49,995 ppm.
2. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi n-butanol dan residu, sedangkan residu memiliki aktivitas antioksidan yang paling rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol.

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada sampel yang memiliki nilai  $EC_{50}$  yang rendah dengan aktivitas antioksidan tertinggi untuk mengetahui senyawa mana yang memiliki potensi antioksidan pada jahe merah.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agustin, D., Ismiyati. 2015. Pengaruh konsentrasi pelarut pada proses ekstraksi antosianin dari bunga kembang sepatu. *KONVERSI*. 4(2): 9-16.
- Ajjjah, N. B., Martono, N. B., dan Hadad. 1997. Botani dan Karakteristik didalam: Sitepu D., Sudiarto, N. Bermawie., Supriadi, D. Soetopo., Rosita, S.M.D., Hernani, A.M., Rivai, editors. *Monograf no 3: Jahe*. Balai Penelitian tanaman Rempah dan Obat, Badan Litbang Deptan.
- Almasyhuri, S., Wardatun, L. Nuraeni. 2012. Perbedaan Cara Pengirisan dan Pengeringan terhadap Kandungan Minyak atsiri dalam Jahe Merah. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 40(3): 123-129.
- Apak, R., K. Guclu, B. Demirata, M. Ozyurek, S. E. Celik, B. Bektasoglu, K. I. Berker, dan D. Ozyurt. 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*. 12: 1496-1547.
- Arobi, I. 2010. Pengaruh Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc) Terhadap Perubahan Pelebaran Alveolus Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Terpapar *Allethrin*. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan biologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim.
- Bachri, M. S. 2011. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Metanol Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe*) Pada Mencit Jantan yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Journal Ilmiah Kefarmasian*. 1(2): 35-41.
- Barki, T. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Minyak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum), Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. Amarum), dan Jahe Gajah (*Zingiber officinale* var. Officinale). *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Bellik, Y. 2014. Total Antioxidant Activity and Antimicrobial Potency of The Essential Oil and Oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 4(1): 40-44.
- Bhargava, S., D. Khispra, B. Amla, S. Asha, dan M. Bharti. 2012. *Zingiber officinale* : Chemical and Phytochemical Screening and Evaluation of Its Antimicrobial Activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 4(1): 360-364.
- Chrubasik, S., M. H. Pittlerc, dan B. D. Roufogalis. 2005. Zingiberis Rhizoma: A Comprehensive Review on The Ginger Effect and Efficacy Profiles. *Phytomedicine*. 12(9): 684-701.

- Dugasani, S., M. R. Pichika, V. D. Nadarajah, M. K. Balijepalli, S. Tandra, dan J. N. Korlakunta. 2010. Comparative Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *J. Ethnopharmacol.* 127: 515–520.
- Edawati, Z. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol *Ascidia Didemnum* sp. Dari Kepulauan Seribu dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan senyawa dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi Ekstensi.
- Erel, O. 2004. A Novel Automated Direct Measurement Method For Total Antioxidant Capacity Using a New Generation, More Stable ABTS Radical Cation. *Clinical biochemistry.* 37(4): 277-285.
- Fatimah, S., I. Haryati, dan A. Jamaludin. 2009. Pengaruh Uranium terhadap Analisis Thorium Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Seminar Nasional V SDM Teknologi Nuklir*.
- Fidrianny, I., A. Dian, dan R. Hartati. 2015. Antioxidant Capacities, Phenolic, Flavonoid, and Carotenoid Content of Various Polarities Extracts from Three Organs of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 7(5): 914-920.
- Ghasemzadeh A., H. Z. E. Jaafar, dan A. Rahmat. 2010. Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules.* 15: 4324-4333.
- Gupta, A.D., dan Rajpurohit, D. 2011. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Nutmeg (*Myristica fragrans*). In Preedy, V.R., Watson, R.R. & Patel, V.B. (eds). *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*.
- Gupta, S. K., dan A. Sharma. 2014. Medical Properties of *Zingiber officinale* Roscoe-A Review. *IOSR Journal of Pharmacy and iological Sciences.* 9(5): 124-129.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwan Sudiro, 65-75. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok : Departemen Farmasi Universitas Indonesia.
- Hefnawy, T. H. 2016. Composition and Antioxidant Activity of the Polysaccharides from Ginger (*Zingiber officinale* L.). *J. Agric. Chem. And. Biotechn.* 7(1) : 13-20.

- Herlina, R., L. Muhanarto, dan Pribadi. 2002. *Khasiat & Manfaat Jahe Merah Si Rimpang Ajaib*. Jakarta Selatan: Agro Media Pustaka.
- Hernani dan Hayani. 2001. *Identification of Chemical Components on Red Ginger (Zingiber officinale var. Rubrum) by GC-MS. Proc. International Semnar on Natural Products Chemistry and Utilization of Natural Resources*. Jakarta: UI-Unesco.
- Hidayati, F., P. Agusmawanti, dan M. H. Firdausy. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Ulkus Traumatikus Mukosa Mulut Akibat Bahan Kimiawi. *ODONTO Dental Journal*. 2(1): 51-57.
- Inggrid, H. M., dan H. Santoso. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Research Report-Engineering Science*.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS) report. 2017. *Zingiber officinale Roscoe*. <http://www.itis.gov.htm> [5 Oktober 2017].
- Julyasih, K. S., I. G. P. Wirawan, W. S. Harijani, dan W. Widajati. 2009. Aktivitas Atioksidan Beberapa Jenis Rumput Laut (Seaweeds) Komersial di Bali. *Disampaikan pada Seminar Nasional*, Surabaya, 2 Desember 2009.
- Khopkar, S. M. 2010. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penj. A. Saptoraharjo. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kikuzaki, H., dan N. Nakatani. 1993. Antioxidant Effects of some Ginger Constituents. *Journal Foods Science*. 58: 1407-1410.
- Kurniasari, L., I. Hartati, R. D. Ratnani dan I. Sumantri. 2013. Kajian Ekstraksi Minyak Jahe Menggunakan *Microwave Assisted Extraction (MAE)*. *Skripsi*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang.
- Maramis, R. K., G. Citraningtyas, F. Wehantouw. 2013. Analisis kafein dalam kopi bubuk di kota manado menggunakan spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 2(4): 122-128.
- Maryam, S., Pratama, Effendi dan Naid. 2016. Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha multifida L.*) dengan Metode Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol. 2(1): 90-93.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science Technology*. 26(2): 211-219.

- Muhilal. 1991. Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran. *Cermin Dunia Kedokteran*. 73: 9-11.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367.
- Oboh, G., A. J. Akinyemi, dan A. O. Ademiluyi. 2012. Antioxidant and Inhibitory Effect of Red Ginger (*Zingiber officinale* var. Rubra) and White Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe<sup>2+</sup> Induced Lipid Peroxidation in Rat brain In Vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 64: 31-36.
- Odugbemi, T., 2008. A Textbook of Medicinal Plants from Nigeria. University of Lagos Press, Lagos, Nigeria, ISBN: 978-978-48712-9-7.
- Ozyurek, M., K. Guclu, R. Apak. 2011. The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement. *Trends In Analytical Chemistry*. 30(4): 2439-2453.
- Peng, F., Q. Tao, X. Wu, H. Dou, S. Spencer, C. Mang, L. Xu, L. Sun, Y. Zhao, H. Li, S. Zeng, G. Liu, dan X. Hao. 2012. Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effects of isolated phenolic compounds from fresh ginger. *Fitoterapia*. 83: 568-585.
- Percival, M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. 31: 1-4.
- Piaru, S.P., Mahmud, R., Majid, A.M.S.A. dan Nassar, Z.D.M. (2012). Antioxidant and antiangiogenic activities of the essential oils of *Miristica fragrans* and *Morinda citrifolia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 5(4): 294 – 298.
- Prior, R. L., W. Xianli, dan K. Schaich. 2005. Standardized Methods for the Determination of antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4290-4302.
- Putih, D. 2016. Red Ginger Root Benefits For Health. <http://www.healthy-lives.ga/2017/08/red-ginger-root-benefits-for-health.html> [Diakses pada 23 April 2018].
- Putra, A. A. B., N. W. Bogoriani, N. P. Diantariani, N. L. U. Sumadewi. 2014. Ekstraksi zat warna alami dari bonggol tanaman pisang (*Musa Paradisiaca* L.) dengan metode maserasi, refluks, dan sokletasi. *Jurnal Kimia*. 8(1): 113-119.
- Rahmadani, S., S. Sa'adah, S. Wardatun. 2014. Optimasi ekstraksi jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe) dengan metode maserasi. *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Sapri, A. Fitriani, R. Narulita. 2014. Pengaruh ukuran serbuk simplisia terhadap rendemen ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan metode maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia HKI-Kaltim*. 978-602-19421-0-9.
- Sarma, A. D., A. R. Mallick, dan A. Ghosh. 2010. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Condition : An Overview. *International Journal of Pharma Science and Research*. 1(3): 185-192.
- Semwal, Combrinck dan Vilijoen. 2015. Gingerols and Shogaols: Important Nutraceutical Principles from Ginger. *Phytochemistry*. 177: 554-568.
- Setiawan, B., dan Suhartono. 2005. Stress Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 55(2): 86-91.
- Singh, Akanksha, Sighn, Maurya dan Srivastava. 2009. Antihyperglycaemic, lipid lowering and antioxidant properties of [6]-gingerol; in db/db mice. *Journal of Medicine and Medical Sciences*. 1(12): 536-544.
- Sivasothy, Ching, Hamid, Eldeen, Sulaiman, dan Awang. 2011. Essential Oils of *Zingiber Officinale* var. *Rubrum* Theilade and Their Anti-bacterial Activities. *Food Chemistry*. 124(2011): 514-517.
- Soltani, M. dan J. Baharara. 2014. Antioxidant and Antiproliferative Capacity of Dichloromethane Extract of *Holoturia leucospilota* sea cucumber. *International Journal of Cellular & Molecular Biotechnology*. 1-9.
- Sukari, Sharif, Yap, Tang, Neoh, Rahmani, Ea, Yap, dan Yusof. 2008. Chemical Constituents Variations of Essential Oils From Rhizomes of Four Zingiberaceae Species. *The Malaysian Journal of Analytical Science*. 12(3): 638-644.
- Tambayong, J. 2000. *Patofisiologi untuk Keperawatan*. Jakarta : ECG
- Teke, G. N., P. K. Lunga, H. K. Wabo, J. R. Kuate, G. Giacinti, H. Kikuchi, dan Y. Oshima. 2011. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Methanol Extract, Fraction and Compounds from the Stem Bark of *Entada abyssinica* Steud. ex A. Satabie. *BMS Complementary & Alternative Medicine*. 11:57
- Teow, C. C. 2005. Antioxidant Activity and bioactive Compounds of Sweet potatoes. *Tesis*. Raleigh: Food Science Faculty of North Carolina State University.
- Tursiman, P. Ardiningsih, dan R. Noflani. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1(1): 45-48.

- Vasala, Rajan, Jency, Priyesh, Rethidevi, dan Nazeem. 2012. Indirectorganogenesis in Ginger Seed Embryo Developed Through In Vitro Pollination and Fertilization in Yesodharan EP (ed). *Journal of Pharmacology*. 38(1): 58-59.
- Lactheani, V. 2017. Uji Hambatan Enzim  $\alpha$ -Glukosidase Dari Fraksi Etil Asetat beberapa Varian buah Kenitu (*ChrySophyllum cainito L.*): Sampel buah Dikeringkan Menggunakan Metode Freeze Drying. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Waheed, I., M. Ahmad, N. H. Syed dan R. Ashraf. 2014. Investigation of Phytochemical and Antioxidant Properties of Methanol Extract and Fractions of *Ballota limbata* (Lamiaceae). *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 76(3) : 251-256.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3(2): 59-68
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta korelasinya dengan fenol dan flavonoid pada enam tanaman. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Winarsi, H. 2007. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, Forum Diagnosticum. *Prodia Diagnostic Educational Services*. 1 : 1-12.
- Zulkarnain, A. K., A. Kusumawida, T. Kurniawati. 2008. Pengaruh Penambahan Tween 80 dan Polietilen glikol 400 terhadap Absorpsi Piroksikam Melalui Lumen Usus *In Situ*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 19(1) : 25-31.



LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Identifikasi Tanaman

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur  
Telp 0331-330225

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**  
No. 3169/UN25.1.9/TL/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium  
Jemberense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas  
Jember oleh :

Nama : Tsubu Blacki  
Nim : 122110101118  
Jur./Fak./PT : F. Farmasi/UNEJ

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

1. *Zingiber officinale* var. *officinale* {Syn. -; Family - Zingiberaceae; Vernacular name -  
Jabe gajah, Jabe budak, Jabe putih besar {Ind.} }
2. *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade {Syn. *Zingiber officinale* var. *Sunti*; Family -  
Zingiberaceae; Vernacular name - Jabe merah, Jabe sunti {Ind.} }
3. *Zingiber officinale* var. *Amaram* {Syn. -; Family - Zingiberaceae; Vernacular name -  
Jabe putih kecil, Jabe empit {Ind.} }

Demiikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 21 Desember 2016

Mengetahui,  
Pembantu Dekan I

  
Dr. Agus Sudjaitullah, M.Sc, Ph.D.  
NIP. 195910091986921001

Ketua Laboratorium

  
Dra. Dwi Setyari, M.Si  
NIP. 196404171991032001

Detected by Foad Bahad Utam, S.Si, M.Sc.

**Lampiran B. Perhitungan % Rendemen Ekstrak dan Fraksi****1. Perhitungan % Rendemen Ekstrak**

Bobot ekstrak total = 170,19 g

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100 \%$$

$$= \frac{170,19 \text{ g}}{2000 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 8,51 \%$$

**2. Perhitungan % Rendemen Fraksi**

Fraksi	Massa (g)	% Rendemen
n-Heksana	6,09	20,81 %
Kloroform	7,25	24,74 %
Etil asetat	0,83	2,82 %
n-Butanol	5,27	17,99 %
Residu	9,24	31,55 %

$$\% \text{ Rendemen fraksi} = \frac{\text{Bobot Fraksi yang dihasilkan}}{\text{Bobot ekstrak yang digunakan}} \times 100 \%$$

**Fraksi n-heksana**

Berat vial = 12,46 g

Berat vial + fraksi n-heksana = 18,55 g

Fraksi n-heksana = 6,09 g

$$\% \text{ rendemen} = \frac{6,09 \text{ g}}{29,31 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 20,81 \%$$

**Lampiran C. Gambar Ekstrak Etanol Jahe Merah dan Fraksinya**

Gambar 1. Ekstrak etanol jahe merah



Gambar 2. Fraksi-fraksi jahe merah

## Lampiran D. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum CUPRAC dan Waktu Inkubasi

### 1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum CUPRAC

Scan panjang gelombang

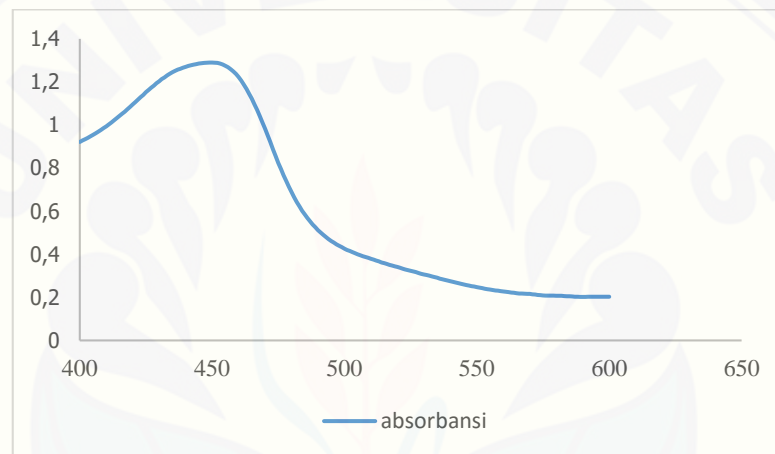
Data Mode : ABS

Range : 200-600 nm

Slit Width : 4 nm

Speed (nm/min) : 800 nm/min

Lamp Change Wavelength : 340,0 nm



Serial NUM: 0730116  
 RM Version: 07  
 Sample Name:  
 Date:  
 Operator:

Wavelength Scan  
 Data Mode: ABS  
 Scan Range: 600.0-100.0nm  
 Slit Width: 4nm  
 Speed(nm/min): 800nm/min  
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm  
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
590.0	0.203	595.0	0.203	598.0	0.203	597.0	0.203
596.0	0.203	596.0	0.203	594.0	0.203	593.0	0.203
592.0	0.203	591.0	0.202	590.0	0.202	589.0	0.202
588.0	0.203	587.0	0.203	586.0	0.203	585.0	0.204
584.0	0.208	583.0	0.208	582.0	0.207	581.0	0.207
580.0	0.207	579.0	0.208	578.0	0.208	577.0	0.208
578.0	0.208	575.0	0.209	574.0	0.210	573.0	0.211
572.0	0.213	571.0	0.214	570.0	0.218	569.0	0.218
568.0	0.217	567.0	0.218	566.0	0.218	565.0	0.219
564.0	0.221	563.0	0.222	562.0	0.224	561.0	0.226
560.0	0.227	559.0	0.229	558.0	0.231	557.0	0.233
556.0	0.234	555.0	0.238	554.0	0.238	553.0	0.246
552.0	0.243	551.0	0.245	550.0	0.247	549.0	0.250
548.0	0.252	547.0	0.255	546.0	0.257	545.0	0.260
544.0	0.263	543.0	0.268	542.0	0.269	541.0	0.271
540.0	0.272	539.0	0.275	538.0	0.281	537.0	0.284
536.0	0.287	535.0	0.291	534.0	0.294	533.0	0.297
532.0	0.301	531.0	0.304	530.0	0.306	529.0	0.309
528.0	0.315	527.0	0.317	526.0	0.320	525.0	0.323
524.0	0.328	523.0	0.329	522.0	0.333	521.0	0.337
520.0	0.341	519.0	0.344	518.0	0.346	517.0	0.351
516.0	0.355	515.0	0.358	514.0	0.362	513.0	0.367
512.0	0.371	511.0	0.375	510.0	0.379	509.0	0.385
508.0	0.387	507.0	0.391	506.0	0.395	505.0	0.400
504.0	0.405	503.0	0.410	502.0	0.415	501.0	0.420
498.0	0.428	499.0	0.433	498.0	0.439	497.0	0.445
495.0	0.454	495.0	0.461	494.0	0.470	493.0	0.480
492.0	0.490	491.0	0.501	490.0	0.512	489.0	0.525
488.0	0.538	487.0	0.553	486.0	0.568	485.0	0.585
484.0	0.602	483.0	0.622	482.0	0.642	481.0	0.665
480.0	0.669	479.0	0.714	478.0	0.745	477.0	0.787
476.0	0.786	475.0	0.824	474.0	0.855	473.0	0.887
472.0	0.820	471.0	0.852	470.0	0.882	469.0	1.012
468.0	1.045	467.0	1.079	466.0	1.095	465.0	1.122
464.0	1.145	463.0	1.167	462.0	1.187	461.0	1.206
460.0	1.223	459.0	1.237	458.0	1.249	457.0	1.259
456.0	1.268	455.0	1.275	454.0	1.281	453.0	1.285
452.0	1.298	451.0	1.299	450.0	1.299	449.0	1.295
448.0	1.288	447.0	1.280	446.0	1.287	445.0	1.280
444.0	1.262	443.0	1.260	442.0	1.277	441.0	1.274
440.0	1.270	439.0	1.265	438.0	1.261	437.0	1.257
436.0	1.251	435.0	1.245	434.0	1.238	433.0	1.230
432.0	1.221	431.0	1.213	430.0	1.203	429.0	1.194
428.0	1.183	427.0	1.173	426.0	1.163	425.0	1.153
424.0	1.140	423.0	1.129	422.0	1.118	421.0	1.108
420.0	1.095	419.0	1.084	418.0	1.073	417.0	1.063
416.0	1.052	415.0	1.042	414.0	1.032	413.0	1.022
412.0	1.012	411.0	1.003	410.0	0.993	409.0	0.983
408.0	0.977	407.0	0.968	406.0	0.951	405.0	0.944
404.0	0.947	403.0	0.945	402.0	0.931	401.0	0.928
400.0	0.921	399.0	0.915	398.0	0.903	397.0	0.894
396.0	0.885	395.0	0.885	394.0	0.891	393.0	0.888
392.0	0.885	391.0	0.883	390.0	0.880	389.0	0.878
388.0	0.877	387.0	0.878	386.0	0.879	385.0	0.875
384.0	0.875	383.0	0.875	382.0	0.874	381.0	0.874
380.0	0.877	379.0	0.885	378.0	0.891	377.0	0.895
376.0	0.894	375.0	0.895	374.0	0.897	373.0	0.896
372.0	0.901	371.0	0.903	370.0	0.904	369.0	0.907
368.0	0.911	367.0	0.911	366.0	0.917	365.0	0.924
364.0	0.928	363.0	0.925	362.0	0.944	361.0	0.953
360.0	0.954	359.0	0.977	358.0	0.991	357.0	1.010
356.0	1.052	355.0	1.039	354.0	1.090	353.0	1.174
352.0	1.183	351.0	1.208	350.0	1.245	349.0	1.283
348.0	1.320	347.0	1.360	346.0	1.394	345.0	1.433
344.0	1.479	343.0	1.537	342.0	1.598	341.0	1.662



332.0	331.0	330.0	329.0
328.0	327.0	326.0	325.0
324.0	323.0	322.0	321.0
320.0	319.0	318.0	317.0
316.0	315.0	314.0	313.0
312.0	311.0	310.0	309.0
308.0	307.0	306.0	305.0
304.0	303.0	302.0	301.0
300.0	299.0	298.0	297.0
296.0	295.0	294.0	293.0
292.0	291.0	290.0	289.0
288.0	287.0	286.0	285.0
284.0	283.0	282.0	281.0
280.0	279.0	278.0	277.0
276.0	275.0	274.0	273.0
272.0	271.0	270.0	269.0
268.0	267.0	266.0	265.0
264.0	263.0	262.0	261.0
260.0	259.0	258.0	257.0
256.0	255.0	254.0	253.0
252.0	251.0	250.0	249.0
248.0	247.0	246.0	245.0
244.0	243.0	242.0	241.0
240.0	239.0	238.0	237.0
236.0	235.0	234.0	233.0
232.0	231.0	230.0	229.0
228.0	227.0	226.0	225.0
224.0	223.0	222.0	221.0
220.0	219.0	218.0	217.0
216.0	215.0	214.0	213.0
212.0	211.0	210.0	209.0
208.0	207.0	206.0	205.0
204.0	203.0	202.0	201.0
200.0			

## 2. Penentuan Waktu Inkubasi

waktu	Absorbansi Sampel						
	Ekstrak	n-heksana	Kloroform	Etil asetat	n-butanol	Residu	Vit. C
<b>0</b>	0,260	2,468	1,228	0,844	0,633	0,913	0,2
<b>5</b>	0,267	2,509	1,234	0,882	0,680	0,993	0,235
<b>10</b>	0,270	2,523	1,234	0,907	0,710	1,040	0,261
<b>15</b>	0,273	2,523	1,241	0,925	0,735	1,086	0,282
<b>20</b>	0,274	2,523	1,251	0,941	0,755	1,116	0,303
<b>25</b>	0,276	2,553	1,26	0,955	0,770	1,161	0,321
<b>30</b>	0,280	2,553	1,269	0,965	0,784	1,187	0,336
<b>35</b>	0,284	2,568	1,271	0,980	0,798	1,217	0,351
<b>40</b>	0,285	2,568	1,291	0,991	0,807	1,259	0,364
<b>45</b>	0,289	2,553	1,302	0,998	0,820	1,267	0,378
<b>50</b>	0,291	2,585	1,301	1,012	0,832	1,300	0,391
<b>55</b>	0,287	2,585	1,309	1,022	0,842	1,328	0,402
<b>60</b>	0,293	2,585	1,315	1,033	0,852	1,352	0,413
<b>65</b>	0,304	2,585	1,321	1,043	0,861	1,371	0,423
<b>70</b>	0,298	2,585	1,345	1,056	0,862	1,414	0,343
<b>75</b>	0,300	2,585	1,35	1,060	0,879	1,419	0,444
<b>80</b>	0,305	2,585	1,385	1,069	0,888	1,462	0,454
<b>85</b>	0,307	2,585	1,394	1,078	0,894	1,466	0,463
<b>90</b>	0,308	2,585	1,405	1,083	0,900	1,472	0,472
<b>95</b>	0,309	2,585	1,456	1,087	0,902	1,512	0,481
<b>100</b>	0,309	2,059	1,480	1,094	0,911	1,525	0,491

**Lampiran E. Perhitungan Bahan Pengujian Aktivitas Antioksidan****1. Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Vitamin C)**

## 1. Replikasi 1

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 100,8 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{25,3 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1012 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1012 \text{ ppm} = 202,4 \text{ ppm}$$

$\frac{0,01 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 1,01 \text{ ppm}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 50,40 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 10,08 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202,4 \text{ ppm} = 60,72 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202,4 \text{ ppm} = 20,24 \text{ ppm}$	$\frac{0,7 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 70,56 \text{ ppm}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 30,24 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202,4 \text{ ppm} = 80,96 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202,4 \text{ ppm} = 40,48 \text{ ppm}$	

## 2. Replikasi 2

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 100,8 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 201,6 \text{ ppm}$$



$\frac{0,01 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 1,01 \text{ ppm}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 50,40 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 10,08 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 60,48 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 20,14 \text{ ppm}$	$\frac{0,7 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 70,56 \text{ ppm}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 30,24 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 80,64 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 40,32 \text{ ppm}$	

### 3. Replikasi 3

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{25,3 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1012 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 100,8 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 201,6 \text{ ppm}$$

$\frac{0,01 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 1,01 \text{ ppm}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 50,4 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 10,08 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 60,48 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 20,14 \text{ ppm}$	$\frac{0,7 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 70,56 \text{ ppm}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 30,24 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 80,64 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 40,32 \text{ ppm}$	

## 2. Pembuatan Larutan sampel Ekstrak dan Fraksi

### 1. Larutan sampel ekstrak etanol jahe merah

#### a. Replikasi 1

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{50,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5040 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5040 \text{ ppm} = 252 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{50,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5050 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5050 \text{ ppm} = 202 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 10,1 \text{ ppm}$	$\frac{0,6 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 121,2 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 252 \text{ ppm} = 25,2 \text{ ppm}$	$\frac{0,6 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 252 \text{ ppm} = 151,2 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 252 \text{ ppm} = 50,4 \text{ ppm}$	$\frac{0,9 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 181,8 \text{ ppm}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 252 \text{ ppm} = 75,6 \text{ ppm}$	
$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 101 \text{ ppm}$	

## b. Replikasi 2

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{50,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5030 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5030 \text{ ppm} = 251,5 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{50,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5040 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5040 \text{ ppm} = 201,6 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 10,08 \text{ ppm}$	$\frac{0,6 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 120,96 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 25,15 \text{ ppm}$	$\frac{0,6 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 150,9 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 50,3 \text{ ppm}$	$\frac{0,9 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 181,44 \text{ ppm}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 75,45 \text{ ppm}$	
$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 201,6 \text{ ppm} = 100,8 \text{ ppm}$	

## c. Replikasi 3

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{50,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5030 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5030 \text{ ppm} = 251,5 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{50,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5050 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5050 \text{ ppm} = 202 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 10,1 \text{ ppm}$	$\frac{0,6 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 121,2 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 25,15 \text{ ppm}$	$\frac{0,6 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 150,9 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 50,3 \text{ ppm}$	$\frac{0,9 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 181,8 \text{ ppm}$

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 251,5 \text{ ppm} = 75,45 \text{ ppm}$	
$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 101 \text{ ppm}$	

## 2. Larutan sampel fraksi n-heksana

### a. Replikasi 1

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,8 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2080 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2080 \text{ ppm} = 1040 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2010 \text{ ppm}$$

$\frac{0,01 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1040 \text{ ppm} = 10,4 \text{ ppm}$	$\frac{0,09 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2010 \text{ ppm} = 180,9 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1040 \text{ ppm} = 52 \text{ ppm}$	$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2010 \text{ ppm} = 201 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2010 \text{ ppm} = 100,5 \text{ ppm}$	
$\frac{0,06 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2010 \text{ ppm} = 120,6 \text{ ppm}$	
$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1040 \text{ ppm} = 156 \text{ ppm}$	

### b. Replikasi 2

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2010 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2010 \text{ ppm} = 1005 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,9 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2090 \text{ ppm}$$

$\frac{0,01 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1005 \text{ ppm} = 10,05 \text{ ppm}$	$\frac{0,09 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2090 \text{ ppm} = 188,1 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1005 \text{ ppm} = 50,25 \text{ ppm}$	$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2090 \text{ ppm} = 209 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2090 \text{ ppm} = 104,5 \text{ ppm}$	
$\frac{0,06 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2090 \text{ ppm} = 125,4 \text{ ppm}$	
$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1005 \text{ ppm} = 150,75 \text{ ppm}$	

### c. Replikasi 3

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2010 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2100 \text{ ppm} = 1050 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,9 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2090 \text{ ppm}$$

$\frac{0,01 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1005 \text{ ppm} = 10,05 \text{ ppm}$	$\frac{0,09 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2009 \text{ ppm} = 180,81 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1005 \text{ ppm} = 50,25 \text{ ppm}$	$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2009 \text{ ppm} = 200,9 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2009 \text{ ppm} = 100,45 \text{ ppm}$	
$\frac{0,06 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2009 \text{ ppm} = 120,54 \text{ ppm}$	
$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1005 \text{ ppm} = 150,75 \text{ ppm}$	

### 3. Larutan sampel fraksi kloroform

#### a. Replikasi 1

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2010 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2010 \text{ ppm} = 603 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2040 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2040 \text{ ppm} = 408 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 408 \text{ ppm} = 204 \text{ ppm}$$

$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 5,1 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 81,6 \text{ ppm}$
$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 15,075 \text{ ppm}$	$\frac{0,17 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 102,51 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 20,4 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 120,6 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 40,8 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 60,3 \text{ ppm}$	

#### b. Replikasi 2

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2020 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2020 \text{ ppm} = 606 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2040 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2040 \text{ ppm} = 408 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 408 \text{ ppm} = 204 \text{ ppm}$$

$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 5,1 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 81,6 \text{ ppm}$
$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 606 \text{ ppm} = 15,15 \text{ ppm}$	$\frac{0,17 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 606 \text{ ppm} = 103,02 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 20,1 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 606 \text{ ppm} = 121,2 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 204 \text{ ppm} = 40,8 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 606 \text{ ppm} = 60,6 \text{ ppm}$	

c. Replikasi 3

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2010 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2010 \text{ ppm} = 603 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2020 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2020 \text{ ppm} = 404 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 404 \text{ ppm} = 202 \text{ ppm}$$

$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 5,05 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 80,8 \text{ ppm}$
$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 15,08 \text{ ppm}$	$\frac{0,17 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 102,51 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 20,2 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 120,6 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 40,4 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 603 \text{ ppm} = 60,3 \text{ ppm}$	

4. Larutan sampel fraksi etil asetat

a. Replikasi 1

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{10,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1030 \text{ ppm}$$

$$\frac{6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 618 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{10,498 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1049,8 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1049,8 \text{ ppm} = 209,96 \text{ ppm}$$

$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 209,96 \text{ ppm} = 5,249 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 209,96 \text{ ppm} = 83,98 \text{ ppm}$
$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 618 \text{ ppm} = 15,45 \text{ ppm}$	$\frac{0,17 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 618 \text{ ppm} = 105,06 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 209,96 \text{ ppm} = 20,99 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 618 \text{ ppm} = 123,6 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 209,96 \text{ ppm} = 41,99 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 618 \text{ ppm} = 61,8 \text{ ppm}$	

b. Replikasi 2

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{10,071 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1007,1 \text{ ppm}$$

$$\frac{6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1007,1 \text{ ppm} = 604,26 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{10,9 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1030 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1090 \text{ ppm} = 218 \text{ ppm}$$

$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 218 \text{ ppm} = 5,45 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 218 \text{ ppm} = 87,2 \text{ ppm}$
$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 604,26 \text{ ppm} = 15,11 \text{ ppm}$	$\frac{0,17 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 604,26 \text{ ppm} = 102,72 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 218 \text{ ppm} = 21,8 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 604,26 \text{ ppm} = 120,85 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 218 \text{ ppm} = 43,6 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 604,26 \text{ ppm} = 60,43 \text{ ppm}$	

c. Replikasi 3

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{10,9 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1090 \text{ ppm}$$

$$\frac{6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1090 \text{ ppm} = 654 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{10,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1010 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1010 \text{ ppm} = 202 \text{ ppm}$$

$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 5,05 \text{ ppm}$	$\frac{0,4 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 80,8 \text{ ppm}$
$\frac{0,025 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 654 \text{ ppm} = 16,35 \text{ ppm}$	$\frac{0,17 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 654 \text{ ppm} = 111,18 \text{ ppm}$

$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 20,2 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 654 \text{ ppm} = 130,8 \text{ ppm}$
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 202 \text{ ppm} = 40,4 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 65,4 \text{ ppm} = 65,4 \text{ ppm}$	

5. Larutan sampel fraksi n-butanol

a. Replikasi 1

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2060 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2060 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2060 \text{ ppm} = 1030 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 51,5 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 309 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2060 \text{ ppm} = 103 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2060 \text{ ppm} = 412 \text{ ppm}$
$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 154,5 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2060 \text{ ppm} = 206 \text{ ppm}$	
$\frac{0,25 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 257,5 \text{ ppm}$	

b. Replikasi 2

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2040 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{10,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1030 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 51,5 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 309 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2040 \text{ ppm} = 102 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2040 \text{ ppm} = 408 \text{ ppm}$
$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 154,5 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2040 \text{ ppm} = 204 \text{ ppm}$	
$\frac{0,25 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1030 \text{ ppm} = 257,5 \text{ ppm}$	

c. Replikasi 3

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,48 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2048 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{10,15 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1015 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1015 \text{ ppm} = 50,75 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1015 \text{ ppm} = 304,5 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2048 \text{ ppm} = 102,4 \text{ ppm}$	$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2048 \text{ ppm} = 409,6 \text{ ppm}$
$\frac{0,15 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1015 \text{ ppm} = 152,25 \text{ ppm}$	
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2048 \text{ ppm} = 204,8 \text{ ppm}$	
$\frac{0,25 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1015 \text{ ppm} = 253,75 \text{ ppm}$	

## 6. Larutan sampel residu

### a. Replikasi 1

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2070 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 2070 = 1035 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2050 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1035 \text{ ppm} = 51,75 \text{ ppm}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1035 \text{ ppm} = 517,5 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 102,5 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 615 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 205 \text{ ppm}$	$\frac{0,7 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1035 \text{ ppm} = 724,5 \text{ ppm}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1035 \text{ ppm} = 310,5 \text{ ppm}$	
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 410 \text{ ppm}$	

### b. Replikasi 2

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{20,9 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2090 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 2090 = 1045 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2050 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1045 \text{ ppm} = 52,25 \text{ ppm}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1045 \text{ ppm} = 522,5 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 102,5 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 615 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 205 \text{ ppm}$	$\frac{0,7 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1045 \text{ ppm} = 731,5 \text{ ppm}$



$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1045 \text{ ppm} = 313,5 \text{ ppm}$	
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2050 \text{ ppm} = 410 \text{ ppm}$	

## c. Replikasi 3

$$\text{Larutan induk 1 : } \frac{10,41 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1041 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk 2 : } \frac{20,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2070 \text{ ppm}$$

$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1041 \text{ ppm} = 52,05 \text{ ppm}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1041 \text{ ppm} = 520,5 \text{ ppm}$
$\frac{0,05 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2070 \text{ ppm} = 103,5 \text{ ppm}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2070 \text{ ppm} = 621 \text{ ppm}$
$\frac{0,1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2070 \text{ ppm} = 207 \text{ ppm}$	$\frac{0,7 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1041 \text{ ppm} = 728,7 \text{ ppm}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1041 \text{ ppm} = 312,3 \text{ ppm}$	
$\frac{0,2 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2070 \text{ ppm} = 414 \text{ ppm}$	

**3. Larutan standar dan uji 0,5 ml ditambahkan reagen CUPRAC ad 4,1 ml.**

## 1. Larutan uji pembandingan (Vitamin C)

## a. Replikasi 1

$$\text{i. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 1,008 \text{ ppm} = 0,12 \text{ ppm}$$

$$\text{ii. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 10,08 \text{ ppm} = 1,23 \text{ ppm}$$

$$\text{iii. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 20,24 \text{ ppm} = 2,47 \text{ ppm}$$

$$\text{iv. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 30,24 \text{ ppm} = 3,69 \text{ ppm}$$

$$\text{v. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 40,48 \text{ ppm} = 4,94 \text{ ppm}$$

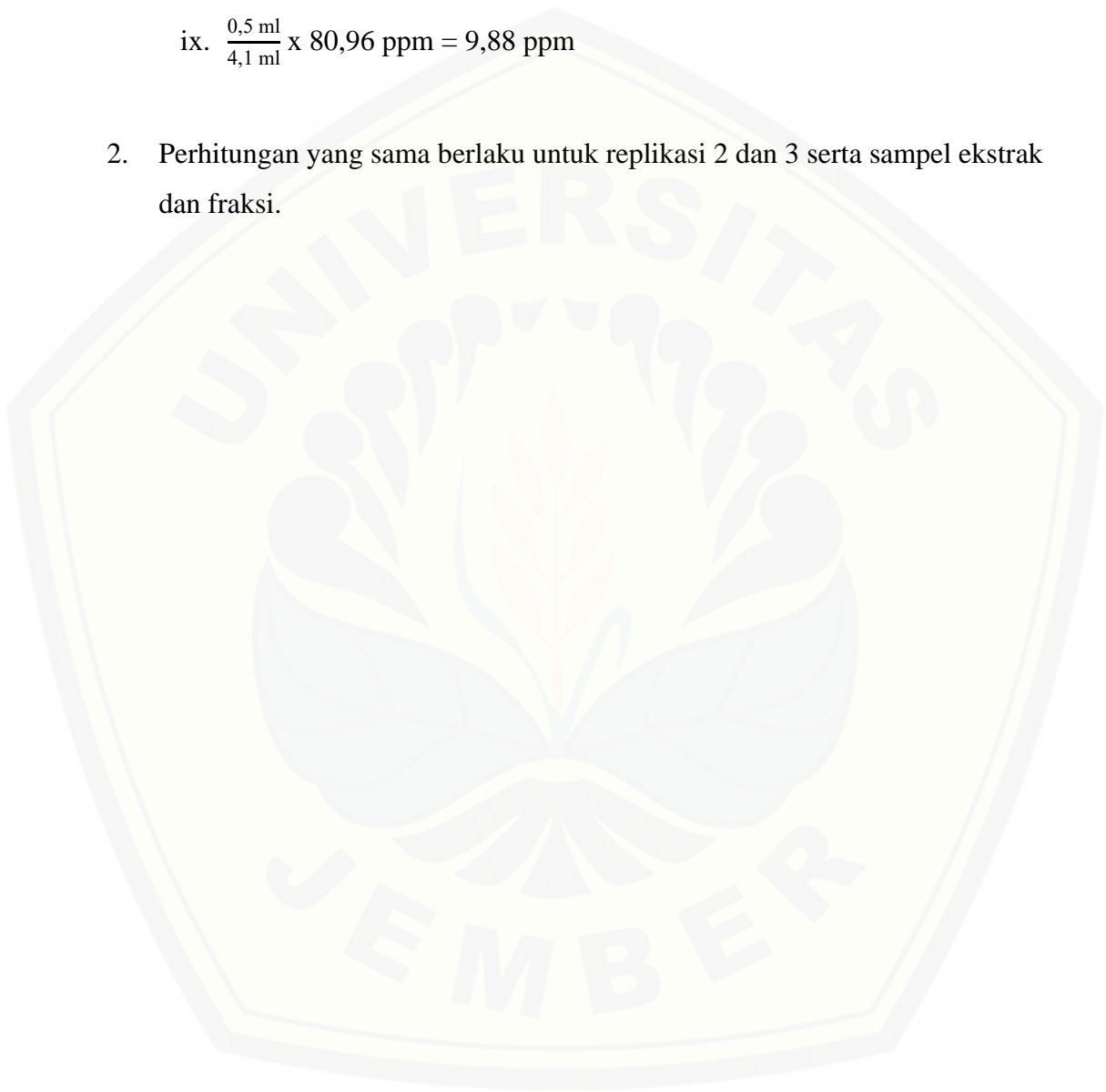
$$\text{vi. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 50,4 \text{ ppm} = 6,15 \text{ ppm}$$

$$\text{vii. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 60,72 \text{ ppm} = 7,41 \text{ ppm}$$

$$\text{viii. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 70,56 \text{ ppm} = 8,61 \text{ ppm}$$

$$\text{ix. } \frac{0,5 \text{ ml}}{4,1 \text{ ml}} \times 80,96 \text{ ppm} = 9,88 \text{ ppm}$$

2. Perhitungan yang sama berlaku untuk replikasi 2 dan 3 serta sampel ekstrak dan fraksi.



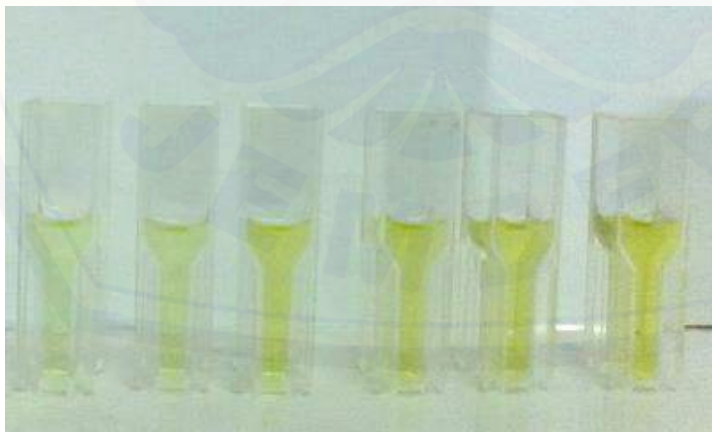
**Lampiran F. Gambar Pengujian Aktivitas Antioksidan**



Gambar 1. Reagen CUPRAC



Gambar 2. Reagen CUPRAC sebelum ditambah sampel



Gambar 3. Reagen CUPRAC setelah ditambah sampel

**Lampiran G. Perhitungan % Kapasitas dan EC<sub>50</sub> Sampel**

Sampel	EC <sub>50</sub>	r hitung	r tabel	Rata-rata EC <sub>50</sub>	SD	RSD (%)
Ekstrak etanol	5,63 ppm	0,9960	0,8077	5,37 ppm	0,21	3,92
	5,37 ppm	0,9950				
	5,11 ppm	0,9955				
Fraksi n-heksana	6,85 ppm	0,9955	0,8427	6,91 ppm	0,22	3,17
	7,21 ppm	0,9979				
	6,69 ppm	0,9979				
Fraksi kloroform	4,75 ppm	0,9979	0,8077	4,68 ppm	0,07	1,39
	4,62 ppm	0,9980				
	4,64 ppm	0,9969				
Fraksi etil asetat	4,01 ppm	0,9953	0,8077	4,07 ppm	0,06	1,45
	4,10 ppm	0,9971				
	4,03 ppm	0,9950				
Fraksi n-butanol	16,72 ppm	0,9956	0,8427	16,62 ppm	0,489	2,942
	17,16 ppm	0,9968				
	16,66 ppm	0,9978				
Residu	50,31 ppm	0,9980	0,8077	49,99 ppm	0,24	0,48
	49,96 ppm	0,9980				
	49,72 ppm	0,9966				
Vitamin C (Kontrol positif)	3,99 ppm	0,9982	0,7755	3,96 ppm	0,02	0,58
	3,93 ppm	0,9977				
	3,98 ppm	0,9980				

1. Perhitungan % kapasitas dan EC<sub>50</sub> Vitamin C

## a. Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Kapasitas (%)
0,12	0,111	22,6
1,23	0,17	32,4
2,47	0,238	42,2
3,69	0,267	45,9

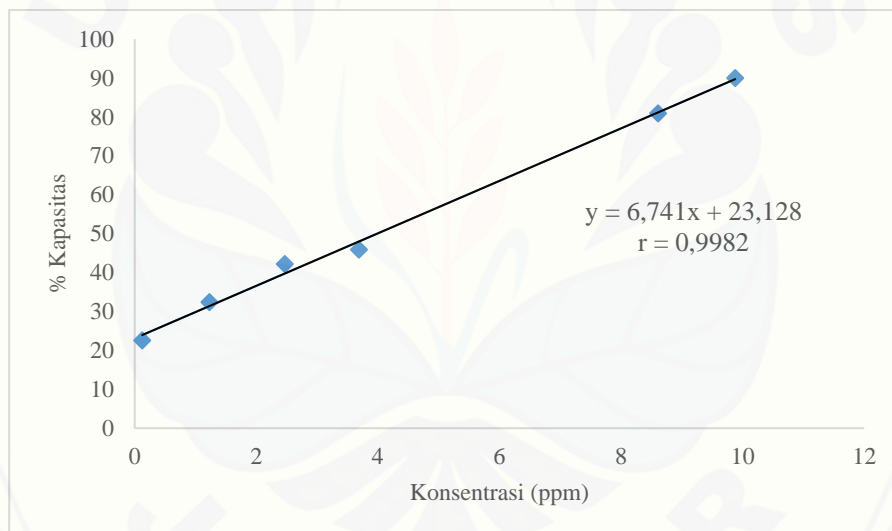
4,94	0,526	70,2
6,15	0,569	73,1
7,41	0,66	78,1
8,61	0,719	80,9
9,88	1	90

Perhitungan kapasitas

$$\text{Abs} = -\log T_s$$

$$\% \text{ kapasitas} = (1 - T_s) \times 100\%$$

- i.  $0,111 = -\log T_s$   
 $0,774 = T_s$   
 $\% \text{ kapasitas} = (1 - 0,774) \times 100\%$   
 $= 22,6\%$



Persamaan regresi :  $y = 6,741x + 23,128$   
 $R^2 = 0,9964$   
 $r \text{ hitung} = 0,9982$   
 $r \text{ tabel} = 0,7977$

Perhitungan  $EC_{50}$

$$50 = 6,741x + 23,128$$

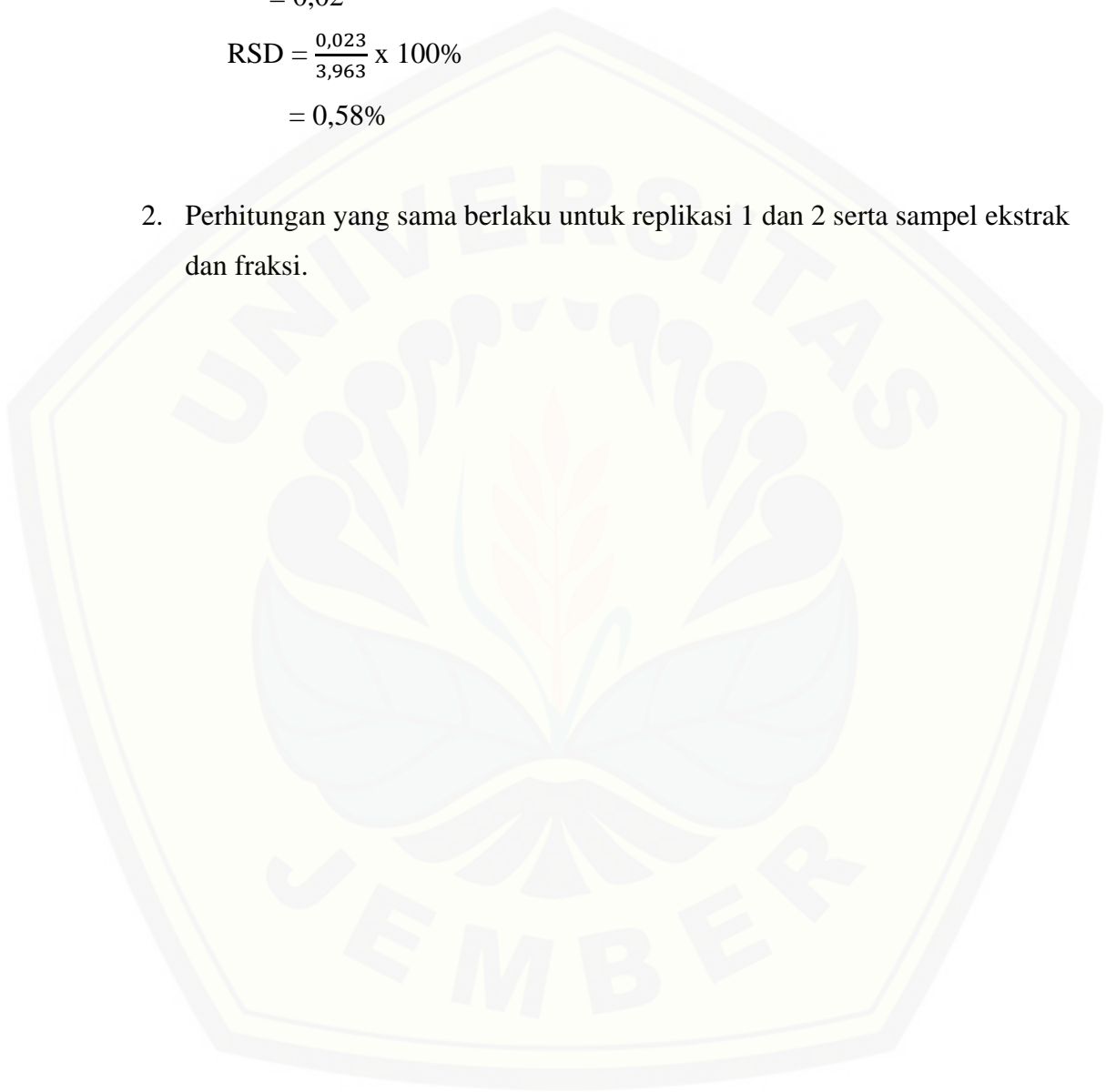
$$x = \frac{50 - 23,128}{6,741}$$

$$x = 3,99$$

$$EC_{50} = 3,99 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned}SD &= \sqrt{\frac{(3,963-3,986)^2 + (3,963-3,926)^2 + (3,963-3,977)^2}{3-1}} \\&= \sqrt{\frac{2,094 \times 10^{-3}}{2}} \\&= 0,02 \\RSD &= \frac{0,023}{3,963} \times 100\% \\&= 0,58\%\end{aligned}$$

2. Perhitungan yang sama berlaku untuk replikasi 1 dan 2 serta sampel ekstrak dan fraksi.



## Lampiran H. Hasil Uji Anova dan LSD

## Tests of Normality

Sampel	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
EC50 Vitamin C	.334	3	.	.860	3	.266
Etil asetat	.183	3	.	.999	3	.932
Kloroform	.358	3	.	.812	3	.144
Ekstrak etanol	.176	3	.	1.000	3	.985
n-heksana	.263	3	.	.955	3	.594
n-butanol	.316	3	.	.889	3	.352
Residu	.217	3	.	.988	3	.789

a. Lilliefors Significance Correction

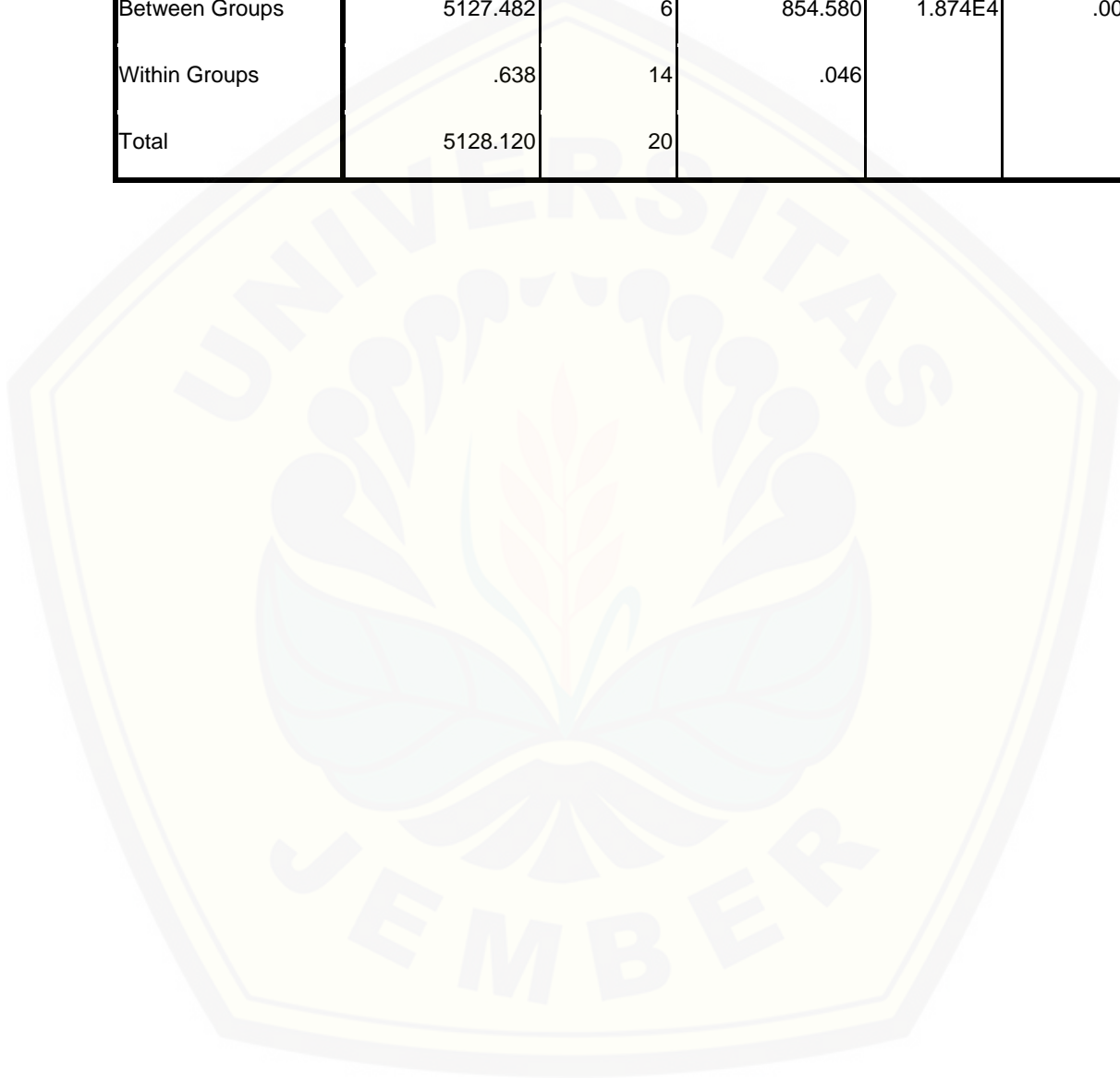
## Test of Homogeneity of Variances

EC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.048	6	14	.126

## ANOVA

EC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5127.482	6	854.580	1.874E4	.000
Within Groups	.638	14	.046		
Total	5128.120	20			





## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

EC50

LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Vitamin C	Etil Asetat	-.111000	.174338	.535	-.62998	.40798
	Kloroform	-.712000*	.174338	.001	-1.23098	-.19302
	Ekstrak Etanol	-1.406667*	.174338	.000	-1.92564	-.88769
	n-Heksana	-2.951333*	.174338	.000	-3.47031	-2.43236
	n-Butanol	-12.871000*	.174338	.000	-13.38998	-12.35202
	Residu	-46.032333*	.174338	.000	-46.55131	-45.51336
Etil Asetat	Vitamin C	.111000	.174338	.535	-.40798	.62998
	Kloroform	-.601000*	.174338	.004	-1.11998	-.08202
	Ekstrak Etanol	-1.295667*	.174338	.000	-1.81464	-.77669
	n-Heksana	-2.840333*	.174338	.000	-3.35931	-2.32136
	n-Butanol	-12.760000*	.174338	.000	-13.27898	-12.24102
	Residu	-45.921333*	.174338	.000	-46.44031	-45.40236
Kloroform	Vitamin C	.712000*	.174338	.001	.19302	1.23098
	Etil Asetat	.601000*	.174338	.004	.08202	1.11998
	Ekstrak Etanol	-.694667*	.174338	.001	-1.21364	-.17569
	n-Heksana	-2.239333*	.174338	.000	-2.75831	-1.72036
	n-Butanol	-12.159000*	.174338	.000	-12.67798	-11.64002

	Residu	-45.320333*	.174338	.000	-45.83931	-44.80136
Ekstrak Etanol	Vitamin C	1.406667*	.174338	.000	.88769	1.92564
	Etil Asetat	1.295667*	.174338	.000	.77669	1.81464
	Kloroform	.694667*	.174338	.001	.17569	1.21364
	n-Heksana	-1.544667*	.174338	.000	-2.06364	-1.02569
	n-Butanol	-11.464333*	.174338	.000	-11.98331	-10.94536
	Residu	-44.625667*	.174338	.000	-45.14464	-44.10669
n-Heksana	Vitamin C	2.951333*	.174338	.000	2.43236	3.47031
	Etil Asetat	2.840333*	.174338	.000	2.32136	3.35931
	Kloroform	2.239333*	.174338	.000	1.72036	2.75831
	Ekstrak Etanol	1.544667*	.174338	.000	1.02569	2.06364
	n-Butanol	-9.919667*	.174338	.000	-10.43864	-9.40069
	Residu	-43.081000*	.174338	.000	-43.59998	-42.56202
n-Butanol	Vitamin C	12.871000*	.174338	.000	12.35202	13.38998
	Etil Asetat	12.760000*	.174338	.000	12.24102	13.27898
	Kloroform	12.159000*	.174338	.000	11.64002	12.67798
	Ekstrak Etanol	11.464333*	.174338	.000	10.94536	11.98331
	n-Heksana	9.919667*	.174338	.000	9.40069	10.43864
	Residu	-33.161333*	.174338	.000	-33.68031	-32.64236
Residu	Vitamin C	46.032333*	.174338	.000	45.51336	46.55131
	Etil Asetat	45.921333*	.174338	.000	45.40236	46.44031
	Kloroform	45.320333*	.174338	.000	44.80136	45.83931

Ekstrak Etanol	44.625667*	.174338	.000	44.10669	45.14464
n-Heksana	43.081000*	.174338	.000	42.56202	43.59998
n-Butanol	33.161333*	.174338	.000	32.64236	33.68031

\*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

