BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Buas-Buas

II.1.1 Klasifikasi Buas-Buas

Klasifikasi dari tanaman buas-buas yaitu[17]:

Kingdom : *Plantae*

Division : *Tracheophyta*

Class : *Magnoliopsida*

Order : *Lamiales*

Family : *Verbenaceae*

Genus : *Premna*

Species : *Premna serratifolia* L.

Gambar 1. Tanaman Buas-buas[18]

II.1.2 Morfologi dan Deskripsi Buas-Buas

Buas-buas merupakan tanaman yang dapat tumbuh di iklim tropis atau subtropis seperti dataran Asia, khususnya pada wilayah Indonesia yang dilewati

oleh garis khatulistiwa.[19] Tanaman buas-buas termasuk ke dalam famili *Verbenaceae*, dengan pohon berukuran kecil membentuk semak yang dapat tumbuh dengan tinggi mencapai 9 meter. Batangnya tidak terlalu besar serta memiliki banyak percabangan. Tanaman ini bisa tumbuh di sekitar pekarangan rumah atau perkebunan.[20]

Daun buas-buas memiliki bau yang khas namun tidak menyengat. Daun buas-buas secara tradisional digunakan dalam mengatasi berbagai penyakit seperti cacingan, masuk angin, memperlancar ASI, pengawet makanan, membantu pembekuan darah, peningkat selera makan pada anak-anak, [21] asma, rematik, demam, batuk, basal, bisul, kurang enak badan, penyakit beri-beri, meredakan sakit kepala, keputihan,[22] antitumor, hepatoprotektif, dan perut kembung.[4] Selain itu daun buas-buas memiliki aktivitas farmakologis sebagai diuretik, spasmolitik, karminatif, ekspektoran, hipoglikemia dalam pengobatan konstipasi, gangguan saluran cerna, *oedema*, penumpukan plak pada pembuluh darah dan penyakit kardiak.[3]

II.1.3 Kandungan Kimia Daun Buas-Buas

Daun buas-buas memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid, alkaloid, glikosida, steroid, saponin,[23] tanin, diterpen dan triterpen yang terdapat pada ekstrak metanol.[3] Pada ekstrak n-heksana daun buas-buas terdapat komponen senyawa seperti *phytol*, *neophytadiene*, *oxirane*, metil ester dari asam risinoleat, 2-*hexadecene*, dan lain-lain.[13]

II.2 Secang

II.2.1 Klasifikasi Secang

Klasifikasi dari tanaman secang yaitu[24]:

Kingdom : *Plantae*

Division : *Spermatophyta*

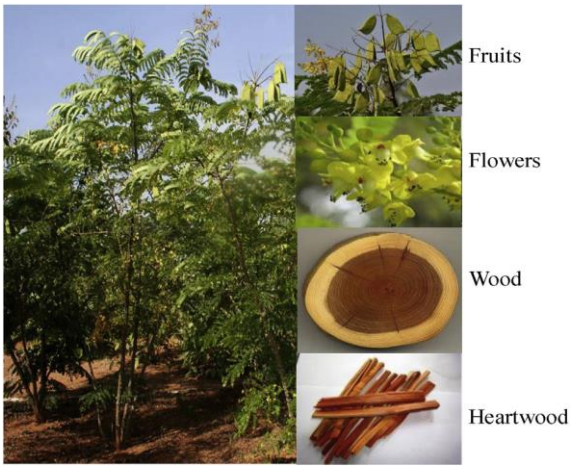
Class : *Dicotyledonae*

Order : *Resales*

Family : *Caesalpiniaceae*

Genus : *Caesalpinia*

Species : *Caesalpinia sappan* L.



Gambar 2. Tanaman Secang beserta bagian buah, bunga, kayu, dan inti kayu[5]

II.2.2 Morfologi dan Deskripsi Secang

Secang merupakan tanaman yang dapat ditemukan dan tersebar luas di Asia Tenggara, salah satunya di Indonesia serta masih termasuk ke dalam famili *Caesalpiniaceae*.[25–27] Tanaman secang dapat tumbuh dengan tinggi hingga 10

meter dan diameter kayu berukuran 15-30 cm. Pada bagian kayu secang dapat mengandung 3 hingga 4 biji, memiliki bentuk seperti *elips*, berwarna coklat kehitamanatau merah pucat dengan tekstur halus yang tersebar merata.[26]

Secara tradisional kayu secang dimanfaatkan sebagai pewarna minuman, makanan, dan kosmetik. Pada pengobatan tradisional Cina (TCM) kayu secang digunakan sebagai analgesik dan anti radang untuk pengobatan traumatik dan gangguan menstruasi, sedangkan pada pengobatan tradisional di India (Ayurveda) kayu secang dimanfaatkan sebagai penyembuh luka, diare, bisul, epilepsi, dan lain-lain.[7] Sementara itu, kayu secang juga telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti antioksidan, antibakteri, antikonvulsan, antiinflamasi, dan lain-lain.[26,27]

II.2.3 Kandungan Kimia Kayu Secang

Kayu secang memiliki komponen senyawa berupa flavonoid dan fenolik seperti 4-*O*-methylsappanol, protosappanin A, protosappanin B, protosappanin E, brazilin, brazilein, caesalpin J, caesalpin P, 3-deoksisappanon,[27–29] kumarin, ksanton, khalkon, flavon,[5] senyawa triterpenoid dan steroid seperti stigmasterol, campesterol, β-sitosterol,[7] minyak atsiri seperti asam galat, D-α-felandrena, osinema, dan lain-lain.[30]

II.3 Simplisia

II.3.1 Definisi

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa

bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan sumbernya, simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu[31]:

1. Simplisia nabati, yaitu simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman merupakan bagian dalam sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan beberapa cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni.
2. Simplisia hewani, yaitu simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.
3. Simplisia pelikan, yaitu simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah secara sederhana atau belum berupa zat kimia murni.

II.3.2 Tahapan Pembuatan Simplisia

Secara umum tahapan dalam pembuatan simplisia meliputi pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu.[32]

1. Pengumpulan Bahan Baku

   Faktor yang mempengaruhi kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda, hal itu bergantung pada :

   - Bagian tanaman yang digunakan
   - Usia tanaman atau bagian tanaman saat dipanen
   - Waktu panen

- Lingkungan tempat tumbuh tanaman

Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif dalam tanaman yang akan di panen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal dalam bagian tanaman atau pada umur tertentu.

2. Sortasi Basah

Sortasi basah bertujuan untuk menghilangkan pengotor atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman, maka bahan-bahan asing tanah, serta pengotor lainnya harus dibuang. Tanah mengandung bermacam-macam cemaran mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal.

3. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dari pengotor yang masih melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan menggunakan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air mengalir, agar dilakukan pencucian dalam waktu sesingkat mungkin. Cara melakukan sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah awal mikroba dalam simplisia.

4. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu melewati proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses

pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan menggunakan pisau atau alat perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, maka semakin cepat penguapan air sehingga mempercepat proses pengeringan. Irisan terlalu tipis menyebabkan berkurang atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan.

5. Pengeringan

   Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan dapat mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik, mencegah penurunan mutu dan perusakan simplisia. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

6. Sortasi Kering

   Sortasi kering dilakukan setelah pengeringan bahan dan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan pengotor atau benda asing yang tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus dan setelahnya dilakukan penyimpanan.

7. Pengepakan dan Penyimpanan

Simplisia dapat rusak, berubah mutunya karena berbagai faktor luar dan dalam antara lain cahaya, oksigen, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang. Selama penyimpanan kemungkinan terjadinya kerusakan pada simplisia. Kerusakan tersebut dapat mengakibatkan kemunduran mutu, sehingga simplisia bersangkutan tidak lagi memenuhi syarat yang ditentukan, oleh karena itu pada penyimpanan simplisia perlu diperhatikan beberapa hal yang dapat mengakibatkan kerusakan simplisia yaitu cara pengepakan, pembungkusan dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya. Air dan kelembaban merupakan faktor utama penyebab kerusakan pada simplisia.

II.4 Ekstraksi

II.4.1 Definisi

Ekstraksi merupakan pemisahan komponen senyawa kimia baik bahan padat maupun cair yang dapat larut dan terpisah dari bahan lainnya yang tidak dapat larut dalam suatu larutan.[33,34] Ekstraksi biasanya dilakukan menggunakan sebuah pelarut organik.[35] Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel tanaman atau hewan yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut kemudian terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel. Larutan dengan konsentrasi terpekat akan

terdifusi keluar sel, dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi kesetimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dan luar sel.[36]

Pelarut yang digunakan harus sesuai dengan kepolaran senyawa yang hendak diambil, karena pelarut yang bersifat polar cenderung akan menarik senyawa yang bersifat polar dan pelarut yang bersifat nonpolar cenderung akan menarik senyawa yang bersifat nonpolar sehingga dikenal istilah "*like dissolves like*". Pelarut yang digunakan sebaiknya mempertimbangkan beberapa faktor yaitu harga yang murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bersifat netral, tidak mudah menguap dan terbakar, serta tidak mempengaruhi senyawa target. Simplisia dengan tekstur lunak seperti daun dan rimpang mudah diserap oleh pelarut, sehingga proses ekstraksi tidak perlu sampai menghaluskan serbuk. Simplisia dengan tekstur keras seperti biji, kulit kayu dan kulit akar sulit diserap oleh pelarut, sehingga perlu dilakukan penghalusan bentuk serbuk.[35]

II.4.2 Metode Ekstraksi

Beberapa cara dalam melakukan suatu ekstraksi diantaranya yaitu[35]:

1. Ekstraksi menggunakan cara dingin
   a. Maserasi

      Maserasi merupakan proses penyarian senyawa dari simplisia tumbuhan menggunakan metode perendaman. Maserasi dilakukan dengan menghaluskan sampel sampai dengan derajat kehalusan tertentu dan direndam dalam bejana tertutup serta terlindung dari cahaya matahari berlangsung selama kurang lebih 1-2 hari. Perendaman biasanya dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan, agar proses

perendaman dapat menyari komponen kimia dalam suatu tumbuhan dengan sempurna.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada temperatur yang selalu terbarukan sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Perkolasi dilakukan menggunakan alat yang disebut sebagai perkolator. Metode perkolasi dilakukan dengan mengalirkan cairan pelarut organik pada sampel yang sebelumnya telah dibasahi. Prinsip dari metode ini adalah pelarut yang telah jenuh selama berada di dalam perkolator akan digantikan oleh pelarut yang lebih baru dan segar.

2. Ekstraksi menggunakan cara panas

– Refluks

Refluks merupakan ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didih yang tinggi, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga termasuk proses ekstraksi sempurna.

– Sokletasi

Sokletasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi secara kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan pendingin

balik. Pelarut yang digunakan berada pada labu yang terletak terpisah dari sampel.

- Digesti

  Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40^{o}-50^{o}C.

- Infusa

  Infusa merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), temperatur terukur 96^{o}-98^{o}C selama waktu tertentu (15-20 menit).

- Dekokta

  Dekokta merupakan infusa pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air.

3. Destilasi Uap

   Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

II.5 Radikal Bebas

II.5.1 Definisi

Radikal bebas merupakan sekumpulan bahan kimia baik atom maupun molekul yang memiliki elektron tanpa pasangan pada lapisan kulit terluarnya atau telah kehilangan elektron.[37,38] Radikal bebas bersifat tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul di sekitarnya untuk menstabilkan atom,sehingga radikal bebas bersifat toksik terhadap molekul biologi/sel. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang terdapat dalam tubuh.[39]

Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan diantaranya memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam.[40] Apabila radikal bebas dalam jumlah berlebih pada tubuh maka dapat mengakibatkan stres oksidatif.[41] Keadaan tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh. Oksigen reaktif dapat merugikan molekul dalam sel, sehingga dapat menghancurkan membran sel, asam nukleat dan protein. Peristiwa tersebut dapat mempercepat proses penuaan dan menimbulkan penyakit lain seperti penyakit jantung dan kanker.[40,42]

Salah satu senyawa yang berhubungan dengan radikal bebas yaitu oksigen. Oksigen merupakan peranan penting dalam berbagai reaksi biokimia tubuh. Akan tetapi oksigen juga merupakan awal terbentuknya radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS). Beberapa ROS yang dapat merugikan tubuh yaitu anion

superoksida (O_2), radikal hidroksil (OH), hidrogen peroksida (H_2O_2), oksigen tunggal ($^1O_2$) dan lain-lain.[43]

II.5.2 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas

Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas dibagi menjadi 3 tahapan reaksi, yaitu[44]:

- Inisiasi :

  $RH \rightarrow R^* + H^*$

- Propagasi :

  $R^* + O_2 \rightarrow ROO^*$

  $ROO^* + RH \rightarrow ROOH + R^*$

- Terminasi :

  $ROO^* + ROO^* \rightarrow ROOR + O_2$

  $ROO^* + R^* \rightarrow ROOR$

  $R^* + R^* \rightarrow RR$

Ketika tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas (R*) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan oleh adanya cahaya, oksigen atau panas. Selanjutnya pada tahap propagasi, radikal (R*) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO*). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH (semisal pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyaw-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton.[44]

II.6 Antioksidan

II.6.1 Definisi

Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisir radikal bebas, yang memiliki kemampuan mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas.[45] Senyawa antioksidan memiliki berat molekul yang kecil, namun mampu mencegah berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara menghambat pembentukan radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif.[2]

Antioksidan dapat mengurangi resiko penyakit kronik seperti kanker dan penyakit jantung. Sumber utama yang memiliki kandungan antioksidan diantaranya adalah gandum, buah-buahan dan sayur-sayuran. Beberapa bahan makanan yang mengandung vitamin C, vitamin E, karoten, asam fenolat, *phytate*, dan pitoestrogen dapat mengurangi resiko penyakit.[43] Seyawa antioksidan seperti asam fenolat, polifenol, dan flavonoid dapat menangkap radikal bebas seperti peroksida, hidroperoksida atau peroksida lipid serta dapat menghambat mekanisme stres oksidatif yang dapat mengakibatkan penyakit-penyakit degeneratif.[46]

II.6.2 Penggolongan Antioksidan

Beberapa penggolongan antioksidan diantaranya :

1. Berdasarkan Mekanisme Kerja[2]
   - Antioksidan primer

     Antioksidan primer atau antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah

radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutation peroksidase (GSH-PX), dan glutation reduktase (GSH-R). Enzim tersebut bekerja dengan cara melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas oksigen seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH), dan hidrogen peroksida (H_2O_2).

- Antioksidan sekunder

  Antioksidan sekunder atau antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, vitamin E, β-karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, dan isokatekin. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

- Antioksidan tersier

  Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim *DNA-Repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *Single* dan *Double strand* pada gugus basa maupun non-basa.

2. Berdasarkan Sumber[47,48]

   – Antioksidan alami, yaitu antioksidan yang didapatkan dari bahan alam serta merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan seperti senyawa golongan alkaloid, flavonoid, serta fenolik.

   – Antioksidan sintetik, merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis sebagai produk komersial. Contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya dalam bahan pangan yaitu propil galat, *buthylated hydroxytoluene* (BHT), *buthylated hydroxyanisole* (BHA), dan *ters-buthyl hydroxyquinone* (TBHQ), dan Tokoferol.

II.7 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

Senyawa antioksidan dapat diukur menggunakan beragam metode. Pengukuran antioksidan pada senyawa aktif tanaman bergantung pada reaksi yang terjadi pada radikal. Secara spektrometrik pengukuran radikal kation atau kompleks bersama molekul antioksidan mampu mendonorkan atom hidrogen. Beberapa jenis metode secara garis besar dalam pengukuran antioksidan yang dapat dilakukan diantaranya[49]:

1. Metode DPPH

   Senyawa DPPH (2,2-*diphenyl*-1-*picrylhydrazyl*) merupakan radikal bebas yang stabil akibat delokalisasi elektron cadangan pada seluruh molekulnya. Delokalisasi pada molekul DPPH yang menentukan terjadinya warna ungu pada senyawa dengan pita serapan maksimum sekitar 520 nm. Ketika senyawa DPPH bereaksi dengan atom hidrogen pendonor, bentuk

molekul tereduksi DPPH dihasilkan beserta dengan hilangnya warna ungu tersebut, kemudian tergantikan oleh warna kuning yang berasal dari gugus pikril. Tingkat penurunan absorbansi senyawa bergantung secara linier pada konsentrasi antioksidan.[50,51] Parameter yang digunakan sebagai interpretasi metode DPPH yaitu nilai *Inhibitory Concentration 50%* (IC_{50}) sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang dapat meredam aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%.[8] Metode ini memiliki keuntungan yaitu cepat dan sederhana dalam penentuan aktivitas antioksidan secara luas karena hanya memerlukan spektrofotometer UV-Vis.[52] Metode ini memiliki kekurangan akibat pengaruh asam atau basa yang dapat mempengaruhi kesetimbangan ionisasi sehingga mengalami peningkatan atau pengurangan dalam mengukur laju konstanta.[53]

2. Metode TEAC atau ABTS

Metode TEAC (*trolox equivalent antioxidant capacity*)didasarkan pada senyawa ABTS (2,2'-*azino-bis*(3-*ethylbenzthiazoline*-6-*sulphonic acid*)) yang membentuk radikal kation ABTS ($ABTS^{\bullet+}$) ketika kehilangan elektron pada atom nitrogen akibat reduksi.[50,54] Metode ini memberikan serapan pada 743 nm berwarna hijau kebiruan. Reaksi ini dapat terjadi karena oksidasi oleh senyawa kalium persulfat atau mangan dioksida terhadap senyawa ABTS. Adanya atom hidrogen pendonor antioksidan membuat atom nitrogen memendarkan atom hidrogen sehingga menyebabkan dekolorisasi larutan. Dekolorisasi larutan merupakan penghambatan $ABTS^{\bullet+}$ sebagai fungsi konsentrasi dan waktu.[55]

Konsentrasi 1 mM Trolox dianggap sebagai konsentrasi antioksidan yang merubah persentase absorbansi $ABTS^{\bullet+}$ dalam metode TEAC.[53]

3. Metode ORAC

Metode ORAC (*oxygen radical absorption capacity*) ditinjau berdasarkan pengukuran antioksidan terhadap radikal peroksil dengan transfer atom H, yang diinduksi oleh 2,2'-*azobis*-(2-*amidino-propane*) *dihydrochloride* (AAPH) pada 37ºC. Fluorescein merupakan substrat protein yang dapat dioksidasi dan digunakan sebagai probe fluoresen.[50] Kehilangan fluoresensi merupakan indikator sejauh mana dekomposisi dari reaksinya dengan radikal peroksil.[56] Keuntungan dari metode ini yaitu sangat berguna untuk sampel yang mengandung banyak bahan yang memiliki reaksi kinetika kompleks serta dapat menggunakan generator radikal bebas atau oksidan berbeda karena kapasitas antioksidan yang terukur dari senyawa bergantung pada radikal bebas atau oksidan yang digunakan oleh alat uji. Namun metode ini memiliki kelemahan diantaranya hanya terbatas untuk mengukur kapasitas antioksidan hidrofilik pada radikal peroksil, tidak termasuk antioksidan yang bersifat lipofilik, karena kelarutan dan intensitas fluoresensi dalam pelarut organik nonpolar yang rendah.[52]

4. Metode HORAC

Metode HORAC (*hydroxyl radical averting capacity*) bergantung terhadap pengukuran aktivitas pengkhelat logam dari antioksidan dengan mendeteksi hidroksilasi asam p-hidroksibenzoat, yang merupakan indikator pembentuk radikal hidroksil.[52] Metode ini menggunakan kompleks Co(II)

untuk mengevaluasi kemampuan proteksi terhadap pembentukan radikal hidroksil. Fluorescein digunakan sebagai *scavenger* dan diinkubasi dengan sampel yang akan dianalisis, kemudian ditambahkan campuran Fenton (penghasil radikal hidroksil). Fluoresensi awal diukur, setelah itu pembacaan dilakukan setiap menit setelah pengocokan. Larutan asam galat dapat digunakan untuk membentuk kurva standar.[56,57] Nilai HORAC menunjukkan kemampuan antioksidan untuk mengkhelat logam, serta membentuk kompleks yang stabil antara Co(II) dan antioksidan.[52]

5. Metode FRAP

Metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) ditentukan berdasarkan reduksi oleh antioksidan dari kompleks ion besi TPTZ (2,4,6-*tri*(2-*pyridyl*)-1,3,5-*triazine*). Pengikatan Fe^{2+} ke ligan menciptakan warna biru laut pekat melalui aksi donor elektron dan berpendar pada 593 nm.[50] Absorbansi dapat diukur untuk menguji jumlah besi yang berkurang dan dapat dikorelasikan dengan jumlah antioksidan. Trolox atau asam askorbat dapat digunakan sebagai senyawa referensi.[58,59] Metode ini memiliki keuntungan yaitu sederhana, murah, cepat, kuat, dan tidak memerlukan peralatan khusus. Metode ini memiliki kelemahan yakni senyawa Fe dapat direduksi oleh beberapa senyawa yang bukan merupakan antioksidan sehingga nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan tidak mutlak, dan antioksidan yang efektif mereduksi Fe bekerja secara tidak efisien.[52]

6. Metode TRAP

Metode TRAP (*total peroxyl radical trapping antioxidant parameter*) mengukur kemampuan senyawa antioksidan dalam menginisiasi radikal peroksil yang diperoleh dari AAPH. *Dichlorofluorescein-diacetate* (DCFH-DA) digunakan sebagai substrat fluoresen pengoksidasi. Oksidasi DCFH-DA oleh radikal peroksil menghasilkan produk *dichlorofluorescein* yang menyerap panjang gelombang 504 nm. Keuntungan dari metode ini yaitu dapat mengukur radikal peroksil hasil inisiasi peroksidasi lipid yang larut dalam air dan sensitif terhadap semua antioksidan pemutus rantai yang telah dikenal sehingga berguna dalam mengukur dan membandingkan kapasitas antioksidan. Metode ini memiliki kekurangan dalam penentuan hasil seperti titik akhir yang terlalu banyak dan tidak stabil sehingga sulit dalam menentukan perbandingan, selain itu membutuhkan keahlian dan pengalaman karena uji TRAP relatif kompleks serta membutuhkan waktu yang lama dalam pengerjaannya.[52]

7. Metode PFRAP

Pada metode PFRAP (*potassium ferricyanide reducing power antioxidant parameter*), peningkatan absorbansi dapat dikorelasikan dengan penurunan kemampuan antioksidan atau ekstrak antioksidan. Senyawa dengan kapasitas antioksidan bereaksi dengan kalium ferrisianida membentuk kalium ferrosianida. Tahap akhir proses ini adalah terjadinya reaksi dengan besi triklorida menghasilkan besi ferrosianida dengan kompleks berwarna biru dan absorbansi maksimum pada 700 nm.[60]

8. Metode Inhibisi Peroksidasi Lipid

Metode inhibisi peroksidasi lipid dilakukan menggunakan sistem mirip Fenton (Co(II) + H_2O_2) untuk menginduksi peroksidasi lipid (misalnya asam lemak), dan menggunakan asam α-linolenat sebagai model substrat. Model ini dicampur dengan sampel yang akan dianalisis, beserta campuran Fenton untuk menginduksi peroksidasi lipid. Setelah inkubasi berakhir, konsentrasi *thiobarbituric acid-reactive substances* (TBARS) diukur sebagai indeks peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid diekspresikan dalam nmoles dari TBARS per 1 mL campuran dari asam α-linolenat / sampel yang dianalisis.[56]

9. Metode CUPRAC

Metode CUPRAC (*cupric reducing antioxidant power*), menggunakan antioksidan standar atau ekstrak yang dicampur dengan $CuSO_4$ dan *neocuproine*. Setelah 30 menit, absorbansi diukur pada 450 nm. Prinsip dari metode ini yakni Cu(II) direduksi menjadi Cu(I) melalui aksi elektron pendonor antioksidan. Hasil dinyatakan dalam miligram per liter dari ekstrak.[61] Metode ini memiliki kelebihan yaitu reagen lebih stabil digunakan daripada beberapa reagen kromogenik lainnya (seperti ABTS dan DPPH), dapat mengukur antioksidan hidrofilik dan lipofilik secara bersamaan, kurva absorbansi versus konsentrasi linier dalam rentang yang luas tidak seperti metode lain yang menimbulkan kurva polinomial. Metode ini memiliki kekurangan yaitu terdapat masalah reduksi Cu dalam memilih waktu reaksi yang tepat pada campuran kompleks antioksidan.[52]

10. Metode *Chemiluminescence*

Secara umum prinsip dari metode ini berdasarkan pada kemampuan luminol dan senyawa antioksidan terhadap luminesensi di bawah serangan radikal bebas *chemiluminescence* (CL). Reaksi ini membentuk emisi cahaya dengan intensitas rendah yang akan terganggu akibat adanya antioksidan.[52] Hasil ditentukan dari durasi periode waktu dimana sampel memadamkan sinyal CL dalam mengakumulasi jumlah antioksidan.[56] Metode ini memiliki kelebihan yaitu CL sangat sensitif untuk mendeteksi reaksi tingkat rendah sehingga dapat memberikan respon di bawah batas deteksi beberapa uji secara kimia. Selain itu, metode ini hanya memerlukan waktu beberapa menit untuk sekali percobaan dan mudah diotomatisasi.[52]

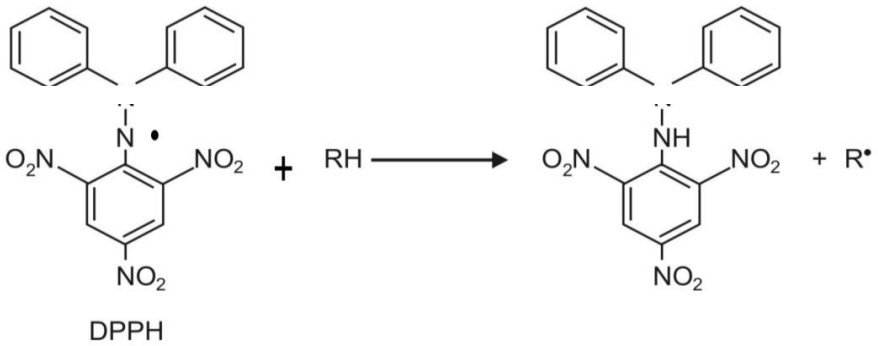
11. Metode TOSC

Metode TOSC (*total oxidant scavenging capacity*) dilihat berdasarkan oksidasi asam α-*keto*-γ-*methiolbutyric* (KMBA) menjadi etilen oleh radikal peroksil yang dihasilkan AAPH. Kapasitas antioksidan diukur dari kemampuannya dalam menghambat pembentukan etilen relatif terhadap suatu kontrol.[52] Nilai antioksidan yang dihitung berkisar dari 0 hingga 100.[62] Metode ini sangat efektif dalam mendeteksi kapasitas antioksidan hidrofilik dan lipofilik serta dapat membedakan antioksidan yang dapat bekerja secara cepat atau lambat. Metode ini memiliki beberapa kekurangan, diantaranya waktu reaksi yang lama (lebih dari 100 menit), larutan uji yang tidak stabil, dan pembentukan etilen butuh beberapa injeksi

dari sampel yang sama dalam kromatografi gas sehingga tidak sesuai dalam menganalisis secara rutin.[52]

II.8 Mekanisme Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode DPPH menggunakan senyawa DPPH (2,2-*diphenyl*-1-*picrylhydrazyl*) untuk menganalisis aktivitas antioksidan. DPPH merupakan komponen berwana ungu yang tidak berdimerisasi dan memiliki bentuk kristal.[63] Senyawa DPPH menunjukkan pita absorbansi yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dan visualisasi larutan yang muncul berwarna ungu gelap.[64] Absorpsi warna akan perlahan memudar hingga tak berwarna seiring lepasnya elektron yang berpasangan dalam memberikan elektron atau atom hidrogen ke radikal bebas sehingga radikal bebas bersifat netral. Hasil pemudaran warna tergantung dengan banyaknya elektron yang diambil radikal bebas. Reaksi yang terjadi karena radikal DPPH yang tereduksi akibat bereaksi dengan atom hidrogen dari suatu antioksidan,[65] dapat digambarkan sebagai berikut :



DPPH

Gambar 3. Mekanisme peredaman radikal bebas oleh DPPH[43]

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dikenal cepat, sederhana, murah dan banyak digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa sebagai penangkap radikal bebas atau pemberi atom hidrogen. Metode ini dapat digunakan untuk kuantifikasi antioksidan dalam sistem biologis yang kompleks, baik sampel yang berbentuk padat maupun yang cair.[49] Selain itu, analisis antioksidan menggunakan berbagai metode yang lain memiliki keterbatasan dalam kelarutan senyawa pada pelarut yang dipilih, sehingga keuntungan dari metode DPPH dapat memberikan reaksi pada seluruh sampel dan waktu yang diberikan cukup bagi DPPH untuk bereaksi perlahan, bahkan jika menggunakan antioksidan yang lemah sekalipun.[43] Metode DPPH dapat dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan senyawa hidrofilik dan lipofilik, dalam kondisi senyawa polar maupun senyawa nonpolar.[66]

Berdasarkan hasil absorbansi yang didapat melalui Spektrofotometer UV-Vis, dapat dicari persentase inhibisi yang merupakan banyaknya senyawa antioksidan yang menangkap radikal bebas DPPH. Persen inhibisi dapat dihitung menggunakan rumus[67]:

$$\%\ \textbf{Inhibisi} : \frac{\boldsymbol{A_{blanko} - A_{sampel}}}{\boldsymbol{A_{blanko}}} \times \mathbf{100}\%$$

Pendekatan paling sederhana dalam menginterpretasikan data yaitu dengan memplot absorbansi terhadap konsentrasi substrat, memperluas kisaran konsentrasi di luar titik akhir untuk menentukan bagian plot berikutnya sehingga titik persimpangan dapat didefinisikan dengan paling akurat sehingga memungkinkan untuk setiap warna sisa dari DPPH yang berkurang, serta absorbansi yang melekat

dari substrat itu sendiri pada panjang gelombang optimum.[68] Hasil dari % inhibisi dimasukkan dalam persamaan linier pada persamaan y = ax + b, dimana :

y = % inhibisi;

a = Gradien;

b = Konstanta; dan

x = konsentrasi (μg/mL).[69,70]

Aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH ditentukan dengan parameter nilai Inhibition Concentration 50% atau IC_{50} atau dengan kata lain konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas radikal DPPH sebanyak 50%. Aktivitas antioksidan yang sangat kuat terjadi apabila nilai IC_{50} kurang dari 0,05 mg/mL (50 ppm), untuk aktivitas antioksidan yang kuat berada pada rentang nilai IC_{50} 0,05-0,1 mg/mL (50-100 ppm). Nilai aktivitas antioksidan dinyatakan sedang apabila dalam rentang IC_{50} 0,101-0,150 mg/mL (101-150 ppm) dan aktivitas antioksidan yang lemah berada pada nilai IC_{50} 0,151-0,200 mg/mL (151-200 ppm).[64,71]

Antioxidant Activity Index (AAI) merupakan nilai yang digunakan untuk mengetahui indeks aktivitas antioksidan. Rumus dari nilai AAI yaitu :

$$\textbf{Nilai AAI} : \frac{\boldsymbol{Konsentrasi\ DPPH\ (ppm)}}{\boldsymbol{Nilai\ IC_{50}\ sampel\ (ppm)}}$$

Aktivitas antioksidan dinyatakan lemah apabila nilai AAI kurang dari 0,5; aktivitas antioksidan dikatakan sedang apabila dalam rentang nilai AAI 0,5-1,0; aktivitas antioksidan yang kuat berada pada rentang nilai AAI 1,0-2,0; dan aktivitas antioksidan sangat kuat ketika nilai AAI lebih dari 2,0.[72]

II.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Visibel merupakan metode analisis berdasarkan interaksi yang terjadi antara radiasi elektromagnetik ultraviolet jarak dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) menggunakan instrumen spektrofotometer. Metode ini didasarkan pada penyerapan sinar ultraviolet maupun sinar tampak yang menyebabkan terjadinya transisi elektron (perpindahan elektron dari tingkat energi yang rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi).[73] Spektrum yang diabsorpsi atau jumlah absolut spektrum sinar yang terserap oleh satu senyawa pada panjang gelombang tertentu. Spektrum yang terserap pada sinar ultra violet dengan panjang gelombang 200-400 nm dan cahaya tampak terjadi karena adanya perubahan energi elektron terluar dari molekul yang disebabkan adanya ikatan atau bukan ikatan.[74]

Cahaya tampak merupakan sebagian kecil dari seluruh radiasi elektromagnetik. Spektrum cahaya tampak terdiri dari komponen-komponen warna seperti merah, jingga, kuning, hijau, biru, dan ungu dimana masing-masing warna memiliki panjang gelombang yang berbeda. Perkiraan panjang gelombang warna-warna dalam daerah cahaya tampak dapat dilihat dalam **Tabel 1.**

Tabel 1. Perkiraan panjang gelombang warna dalam daerah cahaya tampak[75]

Warna	Warna komplementer	Panjang gelombang (nm)
Ungu	Hijau-Kuning	400 – 435
Biru	Kuning	435 – 480
Biru-Hijau	Jingga	480 – 490
Hijau-Biru	Merah	490 – 500
Hijau	Merah Lembayung	500 – 560
Hijau-Kuning	Ungu	560 – 580
Kuning	Biru	580 – 595
Jingga	Biru-Hijau	595 – 610
Merah	Hijau-Biru	610 – 750

Dalam analisis spektrofotometri ultraviolet dan sinar tampak harus diperhatikan hal-hal yang berhubungan dengan warna yaitu sebagai berikut[75]:

1. Kestabilan warna, sedapat mungkin warna yang dihasilkan stabil untuk beberapa lama.
2. Reaksi warna yang spesifik, sebaiknya dipakai reaksi warna yang spesifik untuk unsur tertentu, sehingga adanya unsur-unsur lain tidak mengganggu dan pemisahan tidak perlu dilakukan.
3. Sifat zat warna, apabila zat warna yang terbentuk berada dalam keadaan tertutup dan segera diperiksa karena penguapan akan menyebabkan pemekatan larutan.
4. Sensitif, yaitu dengan perubahan konsentrasi yang kecil akan menyebabkan pemekatan larutan.
5. Larutan homogen, yang akan mengabsorpsi cahaya di setiap bagian yang sama.

II.10 Landasan Teori

Beberapa penelitian dalam menentukan aktivitas antioksidan dari bahan alam telah banyak dilakukan. Tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan diantaranya yaitu buas-buas (*Premna serratifolia* L.) dan secang (*Caesalpinia sappan* L.). Senyawa antioksidan pada daun buas-buas yang telah diteliti pada ekstrak tunggal memiliki nilai aktivitas antioksidan yang baik. Pada penelitian Bakar, dkk. (2010) daun buas-buas memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik dan saponin yang berfungsi sebagai antioksidan.[6] Menurut Singh, dkk. (2011) terdapat kandungan senyawa seperti flavonoid, alkaloid, glikosida, steroid, saponin.[23] Munir (1984) melaporkan senyawa tanin, diterpen dan triterpen terdapat dalam ekstrak metanol daun buas-buas.[3] Penelitian Hadiati (2016) menemukan komponen senyawa ekstrak n-heksana daun buas-buas seperti *phytol*, *neophytadiene*, *oxirane*, metil ester dari asam risinoleat, dan 2-*hexadecene*, dimana senyawa *phytol* adalah komponen yang paling banyak dan merupakan senyawa golongan terpenoid yang memiliki sifat nonpolar.[13] Islam, dkk. (2016) yang meneliti tentang aktivitas antioksidan senyawa *phytol* dilaporkan memiliki nilai IC_{50} sebesar 1.39 ± 0.25 mM/L.[76] Pada penelitian Isnindar, dkk. (2016) aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak wasbenzen daun buas-buas menggunakan ekstraksi secara maserasi bertingkat metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 24,40 ppm dan 532,24 ppm.[9] Berdasarkan penelitian Bakar, dkk. (2010) aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun buas-buas metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 31,91±0,43 ppm.[6] Oktaviani, dkk. (2015) melaporkan aktivitas antioksidan fraksi n-heksan dari ekstrak etanol *Premna serratifolia* L. di

Kalimantan Barat metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 15,224 ppm.[77] Menurut Palariya, dkk. (2019) aktivitas antioksidan ekstrak heksan daun dan kulit kayu *Premna mucronata* Roxb. menggunakan ekstraksi secara perkolasi metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 67,7±0,65 ppm dan 57,27±0,69 ppm.[78] Penelitian Al-Reza (2016) yang menguji aktivitas antioksidan ekstrak kloroform dari daun *Premna integrifolia* Linn. dengan metode ekstraksi menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 90,52 ppm.[79]

Senyawa antioksidan pada kayu secang yang telah diteliti pada ekstrak etanol tunggal memiliki nilai antioksidan yang baik. Menurut Wetwitayaklung, dkk. (2005) terdapat kandungan senyawa golongan flavonoid, triterpenoid dan steroid seperti stigmasterol, campesterol, dan β-sitosterol.[7] Penelitian Lim, dkk. (1996) menemukan senyawa minyak atsiri seperti asam galat, D-α-felandrena, osinema, dan damar serta menunjukkan indeks antioksidatif dari ekstrak kayu secang lebih tinggi daripada antioksidan komersial BHT (*butylated hydroxytoluene*) dan BHA (*butylated hydroxyanisole*).[30] Menurut Utari, dkk. (2017), aktivitas antioksidan ekstrak air tanaman secang metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 15,69 ppm.[10] Penelitian Miksusanti, dkk. (2012) menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kayu secang metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 23,5795 ppm.[11] Menurut Rusdi, dkk. (2005) aktivitas antioksidan pada secang memiliki kemampuan lebih baik daripada vitamin C maupun vitamin E.[80] Pada penelitian Pratoko dan Sary (2016), senyawa turunan kalkon (3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4'-hidroksifenil)-2-propen-1-on) memberikan nilai IC_{50} sebesar 318,2 ppm menggunakan metode DPPH,[81] dimana kalkon merupakan senyawa

turunan flavonoid yang bisa larut dalam pelarut nonpolar.[14][15][82] Afrin, dkk. (2016) melaporkan aktivitas antioksidan dari daun *Caesalpinia crista* L. menggunakan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 201,92 ppm.[83]

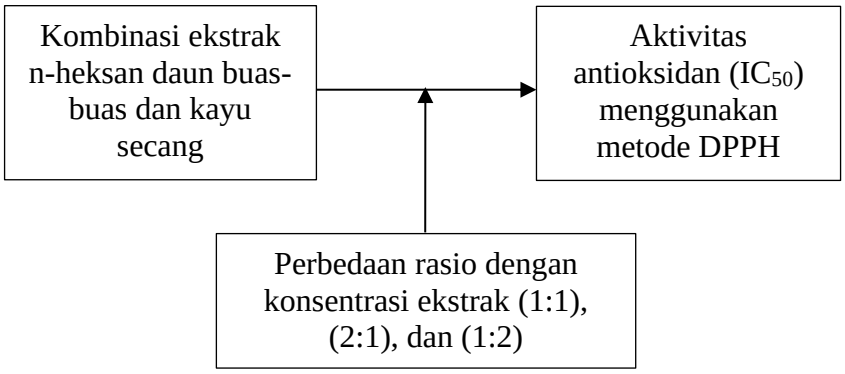
Pelarut nonpolar seperti n-heksan digunakan sebagai acuan bersama dengan beberapa peneliti lain yang menggunakan sampel ekstrak yang sama, namun dengan perbedaan perlakuan seperti pelarut dan jenis ekstraksi yang digunakan. Penggunaan pelarut n-heksan didasari pada beberapa senyawa seperti *phytol* (golongan terpenoid) yang terdapat pada daun buas-buas dan senyawa kalkon (golongan flavonoid yang dapat larut dalam pelarut nonpolar) pada kayu secang yang diharapkan dapat ditarik melalui ekstraksi sehingga dapat membantu potensi aktivitas antioksidan untuk mengkelat radikal bebas dari kedua tanaman tersebut.[13][14][15][84] Senyawa yang bersifat nonpolar seperti terpenoid dapat berfungsi sebagai antioksidan karena dapat mengendalikan metabolisme perlindungan terhadap radikal bebas pada tubuh.[85] Senyawa *phytol* (3,7,11,15-*tetramethylhexadec*-2-*en*-1-*ol*) merupakan senyawa terpenoid golongan diterpen yang memiliki struktur rantai C-20 pada biosintesisnya, dan bersifat mudah larut dalam lemak.[86][87][88] Senyawa *phytol* memiliki gugus hidroksil (OH) pada molekulnya yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk menyumbangkan atom hidrogen dengan elektron tak berpasangan ($H^{\bullet}$) sehingga mengurangi kereaktifan dari radikal bebas.[87] Senyawa kalkon (1,3-difenil-2-propana-1-on) merupakan senyawa golongan flavonoid yang dapat larut dalam pelarut lemak dan memiliki aktivitas biologis salah satunya antioksidan.[89] Kalkon juga memiliki gugus

hidroksil yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk mendonorkan atom hidrogen pada elektron tanpa pasangan dalam radikal bebas.[90]

Kombinasi dari kedua jenis tanaman yang berbeda untuk memperkuat aktivitas antioksidan telah dilakukan. Selain itu, dalam mengkombinasi kedua jenis tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan juga terlebih pada penggunaan dalam formulasi suatu sediaan yang memperhatikan karakteristik dari bahan aktif yang digunakan sehingga di suatu bahan utama dapat memberikan kelebihan sebagai bahan sediaan dan pada bahan kombinasi lainnya melengkapi kekurangan bahan utama yang terdapat pada salah satu jenis tanaman, seperti ciri khas pada tiap tanaman tersebut baik dari segi fisik maupun kimiawinya. Pada penelitian Halimatussa'diah, dkk. (2014) aktivitas antioksidan ekstrak infusa daun cempedak (*Artocarpus champeden*) dan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki nilai IC_{50} pada perbandingan konsentrasi 1:1, 1:2, dan 2:1 yaitu 4,22 ppm, 6,92 ppm, dan 6,77 ppm, dimana perbandingan konsentrasi 1:1 merupakan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} ekstrak tanaman tunggal daun bandotan dan daun cempedak masing-masing yaitu 259,18 ppm dan 8,88 ppm. Oleh sebab itu apabila dibandingkan dengan ekstrak kombinasi keduanya,aktivitas antioksidan lebih baik khususnya pada perbandingan konsentrasi 1:1.[91] Menurut penelitian Retnaningtiyas, dkk. (2017) pengujian sampel tunggal daun kopi Arabika fraksi air ekstrak metanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 26,2 µg/mL dan fraksi eter ekstrak metanol sebesar 63,3 µg/mL, sedangkan sampel tunggal daun pandan pada fraksi air ekstrak metanol dan fraksi eter ekstrak metanol IC_{50} dengan nilai 166 µg/mL dan 204 µg/mL. Sementara itu pada pengujian ekstrak kombinasi daun kopi

Arabika dan daun pandan, aktivitas antioksidan terbesar terdapat pada fraksi air (2:1) dengan nilai IC_{50} 21,1 µg/mL dilanjutkan dengan fraksi air (1:1), (1:2), fraksi eter (2:1), (1:1) dan (1:2) dengan nilai IC_{50} sebesar 33,0 ppm, 41,8 ppm, 73,3 ppm, 82,7 ppm, dan 105 ppm. Berdasarkan hasil yang didapat maka semakin besar jumlah ekstrak metanol daun kopi Arabika yang digunakan dalam kombinasi maka aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin baik, karena ekstrak metanol daun kopi Arabika tunggal memiliki nilai aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun pandan tunggal sehingga ekstrak metanol daun kopi Arabika memberikan sumbangan aktivitas antioksidan yang besar terhadap aktivitas antioksidan daun pandan baik pada fraksi air maupun pada fraksi eter.[92] Begitu pula terhadap kombinasi ekstrak n-heksan daun buas-buas dan kayu secang dimana ekstrak kayu secang dapat memperkuat aktivitas antioksidan dari ekstrak daun buas-buas karena dalam penggunaan daun buas-buas di lingkungan sekitar masih minim dalam pengkajian senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan sehingga untuk kedepannya dapat dijadikan bahan dalam pembuatan sediaan yang berkhasiat sebagai antioksidan.

II.11 Kerangka Konsep



Gambar 4. Bagan Kerangka Konsep Penelitian

II.12 Hipotesa

Hipotesa dari penelitian ini adalah kombinasi ekstrak n-heksan daun buas-buas dan kayu secang dengan perbandingan 1:1, 2:1, dan 1:2 berpotensi sebagai antioksidan.