



**POTENSI ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI N-HEKSANA
EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.)
TERHADAP PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS**

***POTENTIAL ANTIOXIDANTS OF ETHYLACETATE FRACTION AND
N-HEXANE FRACTION OF ETHANOL EXTRACT OF JAVA ACID FRUIT
(*Tamarindus indica* L.) ON FREE RADICAL CAPTURE***

Dini Rahmadani^{1*}, Haris Munandar Nasution²

^{1,2}Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah,
Jl. Garu II No.93, Medan, 20147

Alamat Korespondensi: Jl. Garu II A

Nama Penulis Korespondensi: Dini Rahmadani, Jl. Garu II No.93, Medan, 20147

No. HP: 0813-6520-1192

*E-mail: harismunandarnst15@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan salah satu limbah dari buah-buahan yang tidak dimanfaatkan, padahal disisi lain mengandung vitamin C dan metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid/triterpenoid dan glikosida yang sangat berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan: Untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana ekstrak etanol kulit buah asam jawa terhadap penangkapan radikal bebas. Metode: Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol kulit buah asam jawa. Aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) sebagai radikal bebas. Aktivitas antioksidan dinilai dari pengukuran inhibisi absorbansi DPPH sebelum dan setelah penambahan bahan uji pada berbagai konsentrasi larutan uji sampel yaitu 60 µg/ml; 50 µg/ml; 40 µg/ml; 30 µg/ml; 20 µg/ml, diukur menggunakan spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 515 nm absorbansi 0,726 dan dari data yang diperoleh dihitung nilai IC₅₀. Hasil: Simplisia dan ekstrak etanol kulit buah asam jawa mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid dan glikosida. Fraksi etil asetat kulit buah asam jawa mempunyai aktivitas antioksidan kategori sangat kuat mempunyai nilai IC₅₀ 48,13 µg/ml lebih kuat dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana kategori kuat mempunyai nilai IC₅₀ 53,03 µg/ml. Kesimpulan: Kulit buah asam jawa mengandung senyawa golongan tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan terhadap penangkapan radikal bebas fraksi etil asetat lebih baik dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana.

Kata Kunci: Antioksidan, Kulit Buah Asam Jawa, Fraksinasi, DPPH

ABSTRACT

*Introduction: Tamarind fruit peel (*Tamarindus indica* L.) is one of the wastes from fruits that is not utilized, even though on the other hand it contains vitamin C and secondary metabolites, namely flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, steroids/triterpenoids and glycosides that have great potential as an antioxidant. Objective: To determine the antioxidant activity of the ethyl acetate fraction and the *n*-hexane fraction of ethanol extract of tamarind fruit peel against free radical scavenging. Methods: Phytochemical screening was carried out on simplicia and ethanol extract of tamarind fruit peel. Antioxidant activity was carried out using the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) as a free radical. Antioxidant activity was assessed from the measurement of DPPH absorbance inhibition before and after the addition of the test material at various concentrations of the sample test solution, namely 60 g/ml; 50 g/ml; 40 g/ml; 30 g/ml; 20 g/ml, measured using visible light spectrophotometry at a wavelength of 515 nm absorbance 0.726 and from the data obtained the IC₅₀ value was calculated. Result: Simplicia and ethanol extract of tamarind fruit peel contain alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, steroids/triterpenoids and glycosides compounds. The ethyl acetate fraction of tamarind peel has very strong antioxidant activity having an IC₅₀ value of 48.13 g/ml which is stronger than the *n*-hexane fraction with a strong category having an IC₅₀ value of 53.03 g/ml. Conclusion: Tamarind fruit peel*

contains tannin and flavonoid compounds which have antioxidant activity. Antioxidant activity against free radical scavenging of ethyl acetate fraction was better than that of n-hexane fraction.

Keywords: Antioxidant, Tamarind Fruit Peel, Fractionation, DPPH

PENDAHULUAN

Pemilihan antioksidan alami menjadi perhatian masyarakat karena telah ditemukannya efek samping pada antioksidan sintetik yang bersifat karsinogenik jika digunakan dalam jangka waktu yang lama dan dalam jumlah yang berlebihan (Zuhran et al., 2008). Oleh karena itu senyawa antioksidan alami baru harus terus dicari atau setidaknya diperbaharui agar bisa menjadi penangkal radikal bebas yang lebih aman bagi tubuh manusia, sehingga untuk memenuhi hal tersebut pencarian senyawa antioksidan alami diarahkan pada sumber daya alam (Ipandi *et al.*, 2016).

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai antioksidan alami yaitu asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Asam jawa merupakan salah satu jenis tumbuhan yang banyak dijumpai di daerah tropis. Asam jawa sudah biasa digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Bunga digunakan untuk tuberkulosis (TB), batuk darah, rematik, dan luka. Kulit biji digunakan untuk asma, demam, dan sariawan. Daging buah digunakan untuk menyembuhkan demam, infeksi cacing, sakit kuning, mual dan muntah pada ibu hamil, asma, radang payudara dan campak. Biji digunakan untuk menangani gigitan ular dan luka (Soemardji, 2007).

Berdasarkan penelitian Uji Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daging Buah, Biji Buah, dan Daun Asam Jawa Dengan Metode DPPH yang dilakukan oleh Akmarina (2011), menunjukkan hasil bahwa ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi hingga terendah adalah ekstrak etanol daging buah asam jawa, daun asam jawa, dan biji asam jawa. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daging buah asam jawa sebesar 12.61 $\mu\text{g/ml}$, biji buah asam jawa sebesar 40.21 $\mu\text{g/ml}$, dan daun asam jawa sebesar 27.11 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan penelitian mengenai aktivitas antioksidan kulit buah asam jawa belum pernah dilakukan. Menurut penelitian Syaputri (2013) menunjukkan hasil kandungan ekstrak etanol 70% kulit buah asam jawa dengan uji KLT diperoleh yaitu kulit buah asam jawa mengandung flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan fenolik (tanin) serta berpotensi sebagai menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan.

Pada penelitian ini peneliti menguji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode DPPH ini merupakan metode yang sering digunakan karena paling sederhana, cepat dan murah untuk mengukur kemampuan antioksidan yang terdapat pada makanan, buah-buahan dan sayur-sayuran. Metode ini dapat digunakan untuk sampel yang padat dan bentuk larutan (Sunarni, 2005). Pada metode ini menggunakan vitamin C sebagai pembanding yang merupakan antioksidan yang sangat kuat memiliki efek biologis untuk menghambat kerusakan oksidatif oleh radikal bebas.

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana ekstrak etanol kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap penangkapan radikal bebas.

METODE

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, corong pisah, labu ukur, tabung reaksi, mat pipet, corong), timbangan analitik, rotary evaporator (Eyela), dan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific).

Bahan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.), n-heksana (C₆H₁₄), etil asetat (C₄H₈O₂), aquades (H₂O), metanol (CH₃OH), etanol 96% (C₂H₅OH), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), dan vitamin C (asam askorbat).

Sampel

Sampel kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh di Medan Amplas, Kota Medan, Sumatera Utara. Metode pengambilan dilakukan dengan cara *purposive*, sampel diambil pada satu tempat atau daerah saja tidak membandingkannya dengan daerah lain.

Penyiapan Sampel

Kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.), disortir, dibersihkan terlebih dahulu kemudian dirajang, dan dikeringkan, dihaluskan sampai kering hingga menjadi sampel serbuk dan ditimbang sebanyak 500 gram.

Pembuatan Ekstrak Etanol dan Fraksinasi Kulit Buah Asam Jawa

Pembuatan ekstrak etanol kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) sebanyak 500 gram serbuk simplisia dilakukan secara perkolasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan cara basahi 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok dengan 2,5-5,0 bagian cairan penyari, masukkan ke dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya selama 3 jam. Pindahkan massa sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati-hati, tuangi dengan cairan penyari secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari, tutup perkolator, biarkan selama 24 jam. Biarkan cairan menetes dengan kecepatan 1 ml/menit, tambahkan berulang-ulang cairan penyari secukupnya sehingga selalu terdapat selapis cairan penyari di atas simplisia, hingga diperoleh 80 bagian perkolat. Peras massa, campurkan cairan perasan ke dalam perkolat, tambahkan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana, tutup. Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 50°C, didapatkan hasil ekstrak kental dan hitung rendemen (Depkes RI, 1995).

Fraksinasi dilakukan berturut-turut dengan pelarut n-heksana dan etil asetat. Sebanyak 15 gram ekstrak etanol dilarutkan dalam 100 ml etanol 96% dan ditambahkan 100 ml aquadest lalu dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambah larutan n-heksana 200 ml, digojok dan didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase n-heksana akan berada pada bagian atas dan fase etanol-air berada pada bagian bawah, kemudian dipisahkan. Fase etanol-airnya diekstraksi lagi dengan n-heksana sebanyak 3 kali. Fase etanol-air kemudian ditambahkan dengan etil asetat 200 ml, digojok dan didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase etil asetat akan berada pada bagian atas dan fase etanol-

air berada pada bagian bawah, kemudian dipisahkan. Fase etanol-airnya diekstraksi lagi dengan etil asetat sebanyak 3 kali. Kemudian larutan n-heksana dan larutan etil asetat yang dihasilkan masing-masing dipekatkan hingga didapatkan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat yang kental (Sarker *et al.*, 2006).

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Simplisia dan Ekstrak

Senyawa metabolit sekunder yang diidentifikasi adalah Alkaloid, Flavonoid, Steroid/Triterpenoid, Saponin, Tanin dan Glikosida.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Penyiapan Larutan DPPH

Larutan DPPH disiapkan dengan cara menimbang 20 mg DPPH dan dilarutkan dengan metanol, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, diperoleh larutan stok DPPH dengan konsentrasi 200 µg/ml (Molyneux, 2004).

Dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, dicukupkan dengan metanol, diperoleh larutan DPPH konsentrasi 40 µg/ml, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis, sehingga diperoleh absorbansi maksimum sebagai panjang gelombang maksimum DPPH. Lalu pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dimulai dari menit pertama hingga diperoleh absorbansi stabil, sebagai *operating time* DPPH.

Pembuatan Larutan Sampel Kulit Buah Asam Jawa

Fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana kulit buah asam jawa ditimbang masing-masing sebanyak 20 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml dilarutkan dengan metanol lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 200 µg/ml).

Pengukuran Absorbansi Campuran DPPH dan Kulit Buah Asam Jawa

Dipipet larutan fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana (dari konsentrasi 200 µg/ml) masing-masing sebanyak 1,00 ml; 1,50 ml; 2,00 ml; 2,50 ml; dan 3,00 ml, masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml, dan masing-masing ditambahkan dengan 2 ml larutan DPPH (dari larutan konsentrasi 200 µg/ml), lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, maka diperoleh larutan konsentrasi 20 µg/ml; 30 µg/ml; 40 µg/ml; 50 µg/ml; dan 60 µg/ml.

Selanjutnya didiamkan beberapa menit sesuai dengan *operating time* yang diperoleh, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Perlakuan diulangi sampai 3 kali, sehingga diperoleh data absorbansi dari campuran DPPH dan fraksi kulit buah asam jawa dengan berbagai konsentrasi.

Pengukuran Absorbansi Campuran DPPH dan Vitamin C

Ditimbang 50 mg vitamin C baku, dilarutkan dengan aquadest di dalam labu tentukur sampai 100 ml, maka diperoleh larutan vitamin C dengan konsentrasi 500 µg/ml.

Dipipet larutan vitamin C sebanyak 5 ml, diencerkan di dalam labu tentukur sampai 25 ml, volumenya dicukupkan dengan aquadest sampai garis tanda, maka diperoleh larutan vitamin C konsentrasi 100 µg/ml. Selanjutnya larutan ini digunakan untuk pengukuran absorbansi dipipet masing-masing sebanyak 0,50 ml; 1,00 ml; 1,50 ml; 2,00 ml; dan 2,50 ml diencerkan dengan aquadest di dalam labu tentukur sampai 10

ml lalu ditambahkan 2 ml larutan DPPH (konsentrasi 200 µg/ml), sehingga diperoleh larutan vitamin C konsentrasi 5 µg/ml; 10 µg/ml; 15 µg/ml; 20 µg/ml; dan 25 µg/ml.

Selanjutnya didiamkan beberapa menit sesuai dengan *operating time* yang diperoleh, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Perlakuan diulangi sampai 3 kali, sehingga diperoleh data absorbansi dari campuran DPPH dengan vitamin C berbagai konsentrasi.

Analisa Data

Penentuan Persen Peredaman (% inhibisi)

Aktivitas radikal bebas sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi DPPH (sebelum ditambah sampel - sesudah ditambah sampel)}}{\text{Absorbansi DPPH sebelum ditambah sampel}} \times 100\%$$

Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu menghambat atau meredam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai IC₅₀ dapat diketahui dengan cara membuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sebagai sumbu x) dan % inhibisi (sebagai sumbu y).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Kulit Buah Asam Jawa

Ekstraksi kulit buah asam jawa menggunakan metode perkolasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode perkolasi dipilih karena memberikan beberapa keuntungan, antara lain adanya aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan dan ruang di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran kapiler tempat mengalir cairan penyari.

Hasil dari proses perkolasi berupa perkolat berwarna coklat kemudian dipekatkan. Pemekatan perkolat dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang dilengkapi dengan pompa *vacum*, dengan adanya pompa *vacum* pada *rotary evaporator* maka penguapan pelarut dapat dilakukan dibawah titik didih pelarut dan proses penguapan dapat berlangsung lebih cepat. Hasil proses perkolat Selanjutnya ekstrak kental kulit buah asam jawa di fraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana (non polar) dan etil asetat (semi polar), tujuan dari fraksinasi ialah untuk mengelompokkan senyawa kimia berdasarkan kepolarannya. Hasil rendemen fraksi *n*-heksana 8,08% dan rendemen fraksi etil asetat sebesar 22,13%.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam simplisia dan ekstrak etanol kulit buah asam jawa. Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol kulit buah asam jawa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Kulit Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

No.	Golongan Senyawa	Hasil Pengamatan	
		Serbuk Simplisia	Ekstrak Etanol
1.	Flavonoida	+	+
2.	Steroid/Triterpenoid	+	+
3.	Alkaloida	+	+
4.	Tanin	+	+
5.	Saponin	+	+
6.	Glikosida	+	+

Keterangan :

(+) : mengandung golongan senyawa.

(-) : tidak mengandung golongan senyawa

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Tujuan penentuan λ maks adalah untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan tertinggi. Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 40 $\mu\text{g/ml}$ diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm. Penentuan *operating time* (waktu kerja) bertujuan untuk mengetahui rentang waktu yang tepat yang dapat digunakan untuk melakukan pengukuran absorbansi suatu senyawa. Waktu kerja ditunjukkan dengan nilai absorbansi konstan yang diperoleh pada pengukuran rentang waktu tertentu selama 0-30 menit. Hasil penentuan *operating time* dari larutan DPPH dengan konsentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$ didapatkan absorbansi 0,597 pada menit ke 14 sampai menit ke 16.

Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004). Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam (Robinson, 1983).

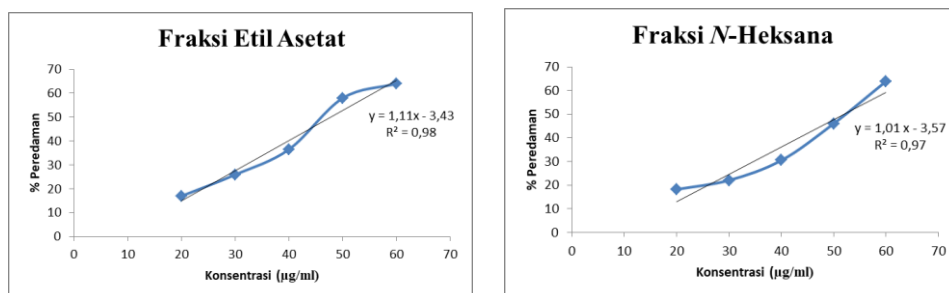
Hasil pengukuran absorbansi DPPH setelah penambahan sampel menunjukkan adanya pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Setelah bereaksi dengan senyawa antiradikal maka DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Adanya penangkapan satu elektron oleh zat antiradikal yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi dimana perubahan ini dapat diukur dan dicatat dengan spektrofotometer (Asih *et al.*, 2012). Maka didapatkan hasil absorbansi DPPH setelah penambahan sampel adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Sampel

Sampel	Konsentrasi Sampel (µg/ml)	Absorbansi Rata-rata
Fraksi Etil Asetat	0	0,726
	20	0,603
	30	0,538
	40	0,461
	50	0,305
	60	0,261
Fraksi <i>N</i> -Heksana	0	0,726
	20	0,594
	30	0,566
	40	0,505
	50	0,392
	60	0,262

Pada tabel diatas, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka akan semakin meningkat aktivitas peredaman DPPH karena semakin banyak DPPH yang berpasangan dengan atom hidrogen dari fraksi-fraksi sampel sehingga serapan DPPH menurun. Penurunan nilai absorbansi terjadi karena adanya peredaman radikal bebas DPPH oleh larutan uji sehingga menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Peredaman terjadi karena adanya hubungan antioksidan dengan DPPH secara transfer elektron atom hidrogen antioksidan kepada radikal bebas DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang (Molyneux, 2004).

Setelah pengukuran didapat data absorbansi kemudian dihitung persen inhibisinya. Persen inhibisi adalah kemampuan suatu sampel untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi suatu sampel. Persen inhibisi didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi kontrol negatif dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis (Molyneux, 2004). Adapun hasil penentuan % peredaman dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 1. Grafik Perbandingan % Peredaman Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi *N*-Heksana Kulit Buah Asam Jawa

Dari grafik perbandingan % peredaman antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana kulit buah asam jawa ditunjukkan pada Gambar 1. bahwa didapatkan hasil persen peredaman yang lebih tinggi adalah fraksi etil asetat. Diduga bahwa golongan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan dalam fraksi etil asetat kulit buah asam

jawa adalah flavonoid dan tanin. Menurut Gusrav, senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion hidrogen. Ion hydrogen hanya memiliki satu buah proton dan tidak memiliki elektron, sehingga dalam electron radikal yang terdapat pada atom nitrogen di senyawa DPPH berikatan dengan ion hydrogen dan menghasilkan DPPH yang tereduksi (Gusrav *et al.*, 2007). Radikal pada DPPH dapat tereduksi ketika bereaksi dengan donor hidrogen yang terdapat dalam senyawa tanin (Arazo *et al.*, 2011).

Berdasarkan teori, fraksinasi menggunakan etil asetat dan *n*-heksana akan memisahkan flavonoid dalam ekstrak etanol menjadi dua bagian dengan polaritas dan kelarutan yang berbeda, yaitu bentuk bukan gula dan bentuk yang terikat dengan gula, masing-masing akan terdistribusi ke dalam fraksi sesuai kelarutan dan polaritasnya (Dewi, 2007).

Hasil Perhitungan IC₅₀

Nilai IC₅₀ didapatkan dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi fraksi uji sebagai sumbu x dan % peredaman sebagai sumbu y. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin aktif ekstrak tersebut sebagai senyawa penangkap radikal DPPH atau senyawa antioksidan. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana dan vitamin C dan perbandingan kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 3. di bawah ini.

Tabel 3. Hasil Perhitungan IC₅₀

No.	Sampel	Persamaan Regresi	IC ₅₀ (µg/ml)
1.	Fraksi Etil Asetat	$Y = 1,11x - 3,43$	48,13
2.	Fraksi <i>N</i> -Heksana	$Y = 1,01x - 3,57$	53,03
3.	Vitamin C	$Y = 2,81x + 21,21$	10,24

Dari tabel diatas berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa secara umum kedua fraksi mempunyai aktivitas antioksidan. Fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana mempunyai aktivitas yang sangat kuat dan kuat sebagai antioksidan dengan IC₅₀ masing-masing sebesar 48,13 µg/ml dan 53,03 µg/ml. Perbedaan nilai IC₅₀ pada masing-masing fraksi disebabkan oleh adanya distribusi golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan (flavonoid dan tanin) berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan. Aktivitas terkuat dimiliki oleh fraksi etil asetat, kemudian fraksi *n*-heksana dengan aktivitas terendah. Potensi antioksidan fraksi *n*-heksana yang tergolong kurang aktif diduga turut disebabkan oleh adanya pengganggu seperti protein, lemak dan senyawa lainnya yang dapat terlarut dalam pelarut non-polar, dalam hal ini adalah pelarut *n*-heksana, sehingga menghalangi proses penangkapan radikal bebas. Adanya senyawa protein atau lemak pada fraksi dapat mengganggu proses penangkapan radikal bebas oleh senyawa flavonoid. Protein atau lemak pada tumbuhan dapat memberikan atom hidrogen yang dimilikinya sehingga akan berikatan dengan radikal hidroksil pada DPPH (Pine, 1988).

Bila kedua fraksi tersebut dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C, maka nilai IC₅₀ vitamin C lebih kecil daripada kedua fraksi tersebut. Nilai tersebut menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan dengan sampel kedua fraksi. Hal ini disebabkan karena vitamin C yang digunakan merupakan senyawa murni yang terbukti mempunyai aktivitas antioksidan lebih baik bila dibandingkan dengan ekstrak yang terdiri dari berbagai komponen dan masih merupakan campuran beberapa senyawa (Yuliani *et al*, 2016). Hal ini dikarenakan fraksi etil asetat kulit buah asam jawa diperoleh dari ekstrak etanol kulit buah asam jawa dengan cara ekstraksi langsung sehingga senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol merupakan akumulasi dari senyawa polar, semi polar dan non polar. Ketika ekstrak diekstraksi secara bertingkat dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat maka komponen-komponen senyawa yang terdapat pada ekstrak akan terpisah.

Hasil penelitian Razali *et al.*, (2012) menyatakan bahwa terdapat korelasi positif antara kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan tanaman. Ekstrak etanol biji *Tamarindus indica* menunjukkan kandungan total karbohidrat yang tinggi dan memiliki kandungan fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan (Luzia & Jorge, 2011).

KESIMPULAN

Hasil skrining fitokimia kulit buah asam jawa menunjukkan bahwa kulit buah asam jawa mengandung senyawa golongan tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan terhadap penangkapan radikal bebas fraksi etil asetat lebih baik dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri *visible* dengan nilai IC₅₀ untuk fraksi etil asetat 48,13 µg/ml dan IC₅₀ untuk fraksi *n*-heksana 53,03 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Arazo, M., Bello, A., Rastrelli, L., Montelier, M., Delgado, L., Panfet, C. (2011). *Antioxidant properties of pulp and peel of yellow mangosteen fruits*. *Emir. J. Food Agric*, 23, 517–524.
- Asih I. A. R. Astiti & Setiawan I M. A. (2010). *Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak *n*-Butanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstroemia speciosa Pers.*)*. Bali: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. ISSN 1907-9850.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, A. S. (2007). *Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol Teh Hijau Melalui Penangkapan Radikal Hidroksil Dengan Metode Deoksiribosa*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Gusrav, S., Deshkar, N., Gulkari, V., Duragkar, N., dan Patil, A. (2007). *Free Radical Scavenging Activity of Polygala chinensis Linn*. *Pharmacology*, 2, 245-253.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno. (2016). *Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata Wedd.*)*. *Jurnal Pharmascience*, Vol. 3 No.1, hh. 93-100
- Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). *Chemical And Molecular Mechanisms Of Antioxidants: Experimental Approaches And Model Systems*. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, Vol. 14 No.4, hh. 840–860.

- Luzia, D. M. M. and Jorge, N. (2011). *Antioxidant activity, fatty acid profile and tocopherols of Tamarindus indica L. seeds. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas* 31(2): 497-501.
- Molyneux, P. (2004). *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Journal of Science and Technology.* Vol. 26 no. 2, hh. 211-219.
- Pine, H.S. (1988). *Radikal Bebas.* Bandung: ITB. Terjemahan dari: Organic Chemistry 2, pp. 23-26.
- Razali, N., Mat-Junit, S., Abdul-Muthalib, A.F., Subramaniam, S., and Abdul-Aziz, A. (2012). *Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of Tamarindus indica L. Food Chemistry* 131: 441-448.
- Robinson, T. (1983). *The Organic Constituents of Higher Plants Their Chemistry and Interrelationships. 5th Ed., 200.* Cordus Press. North Amherst.
- Sarker, S. D., Latif, Z., & Gray, A. I. (2006). *Natural products isolation. editors. Natural Products Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey).* Humana Press Inc. hal. 6-10.
- Selvi, A. T., Shipra, S., Kritigha, G., Chandrasekaran, B., Rose, C. (2011). *Antioxidant and Antimicrobial Activity of Leaves Extract (Tamarindus indica L.) and It's Phytochemical Characterisation. J. Pharm. Res,* vol. 4 no. 12, hh. 4435-4438.
- Septiani, R., Marianne, Nainggolan, M. (2018). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksan Serta Fraksi Etil Asetat Daun Jamblang (Syzygium Cumini L. Skeels) Dengan Metode Dpph. TM Conference Series,* vol.02 hh. 361-366.
- Silalahi, J. (2006). *Makanan Fungsional.* Yogyakarta: Kansius.
- Soemardji, A. A. (2007). *Tamarindus Indica L. or "Asam Jawa": The Sour but Sweet and Useful.* University of Toyama. Japan. 13.
- Sunarni, T. (2005). *Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. JFI* 2, hh. 53-61
- Syaputri, R. R. (2013). *Uji Efek Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Asam Jawa (Tamarindus indica L) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus) Yang Diinduksi Aloksan. Skripsi.* Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kanisius.
- Zuhran, C. T., Taringan, J. B., & Sihotang, H. (2008). *Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (Sauropus androgunus (L) Merr.). Jurnal Biologi Sumatera,* Vol. 1, hh. 1907-5537.
- Yuliani, N., Sambara, J., dan Mau, M. A. (2016). *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etilasetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) Dengan Metode DPPH(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). Jurnal Info Kesehatan.* Vol. 14 No. 1