

EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN DARI KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*)

Disusun Oleh :

- 1. Y.I.P Arry Miryanti, Ir., M.Si**
- 2. Dr. Lanny Sapei, S.T., M.Sc**
- 3. Kurniawan Budiono**
- 4. Stephen Indra**



**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA
MASYARAKAT
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN
BANDUNG
2011**

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian yang berjudul “Ekstraksi Antioksidan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*)”. Dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan laporan ini, penulis banyak menerima dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Budi Husodo Bisowarno, selaku Ketua LPPM-UNPAR yang telah mendukung dana penelitian.
2. Dr. Ir. Paulus Sukpto, MBA selaku Dekan FTI-UNPAR yang telah memberikan izin dalam pelaksanaan penelitian.
3. Dr. Henky Muljana, ST.,M.Eng selaku Ketua Jurusan yang telah memberikan izin dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.
4. Dr. Lanny, Kurniawan Budiono dan Stephen Indra yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.
5. Semua pihak yang turut membantu penyelesaian penelitian ini dan tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat menghargai saran serta kritik dari pembaca sebagai masukan bagi penulisan selanjutnya. Akhir kata, semoga laporan penelitian ini dapat berguna bagi semua pihak. Terima kasih.

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
ABSTRAK.....	v
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	2
1.3. Urgensi Penelitian.....	2
BAB II. STUDI PUSTAKA	
2.1. Tanaman Manggis	6
2.2. Antioksidan pada Kulit Buah Manggis.....	8
2.2.1 Poliphenol	10
2.2.2 Flavonoid	11
2.3. Mekanisme Kerja Antioksidan	12
2.4. Radikal Bebas	12
2.5. Metode DPPH untuk Uji Aktivitas Antioksidan	13
2.6. Ekstraksi	13
2.7. Hasil Penelitian tentang Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis.....	15
BAB III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	
3.1. Bahan dan Peralatan.....	17
3.2. Prosedur Penelitian	17
3.2.1. Penyiapan Sampel.....	17
3.2.2. Penelitian Pendahuluan.....	18
3.2.3. Penelitian Utama.....	19
3.2.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	19
3.3. Rancangan Percobaan.....	20
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Penyiapan Sampel.....	22
4.2. Penelitian Pendahuluan.....	22

4.3. Penelitian Utama.....	23
4.3.1 Pengujian Aktivitas Antioksidan	24
4.3.2 Analisis Varian Rancangan Percobaan	29
4.3.3 Analisis Rendemen	32
4.3.4 Analisis Skrining Fitokimia	33
4.3.5 Analisis FTIR.....	34
4.3.6 Analisis GC-MS.....	35
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN A PROSEDUR ANALISIS	47
A.1 Analisa Kadar Air	47
A.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan	48
A.3 Rendemen Antioksidan	49
A.4 Uji Fitokimia.....	50
A.4.1 Uji Alkaloid	50
A.4.2 Uji Flavonoid	51
A.4.3 Uji Polifenolat.....	51
A.4.4 Uji Tanin	52
A.4.5 Uji Steroid dan Triterpenoid	52
A.4.6 Uji Kuinon	53
A.4.7 Uji Saponin	53
A.5 Metode FTIR.....	53
A.6 Metode GC-MS.....	54
LAMPIRAN B CONTOH PERHITUNGAN.....	55
B.1 Penentuan Persen Inhibisi	55
B.2 Penentuan Nilai EC ₅₀ sampel	55
B.3 Penentuan Rendemen (berat kering)	55
B.4 Rancangan Percobaan 3 faktorial.....	55

ABSTRAK

Pemanfaatan limbah kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana L*) hingga saat ini masih terbatas pada penyamakan kulit, pewarnaan tekstil dan obat tradisional. Namun, kulit buah manggis juga sebenarnya kaya sekali akan senyawa antioksidan yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia dan potensi ini belum dimanfaatkan secara luas. Oleh karena itu proses ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis perlu dikaji lebih lanjut. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh jenis pelarut, temperatur dan rasio umpan terhadap pelarut (F:S) dalam proses ekstraksi antioksidan yang terdapat pada kulit buah manggis terhadap aktivitas antioksidan. Jenis pelarut yang digunakan antara lain metanol, methanol-air (9:1) dan air. Sedangkan temperatur divariasikan dari temperatur kamar, 35°C, dan 45°C serta variasi rasio F:S yang dipilih adalah 1:7, 1:10, 1:15. Kulit buah manggis dikecilkan ukurannya dan kadar airnya dikurangi hingga ± 8-10%. Setelah itu dilakukan penelitian pendahuluan untuk penentuan waktu proses ekstraksi yang dianggap dapat mewakili lamanya waktu ekstraksi pada penelitian utama. Proses ekstraksi penelitian pendahuluan dilakukan pada temperatur kamar dengan pelarut air dan rasio F:S = 1:7. Karakteristik senyawa antioksidan yang terdapat pada ekstrak diuji lebih lanjut menggunakan uji fitokimia, FTIR, dan GC-MS. Di samping itu aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode radikal bebas stabil DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yang ditunjukkan oleh nilai EC₅₀ (konsentrasi antioksidan yang mampu memberikan peredaman radikal bebas sampai 50%). Variabel proses hasil penelitian yang terbaik adalah ekstraksi antioksidan dengan pelarut metanol, temperatur 35°C dan rasio F:S=1:15, dengan nilai rendemen dan EC₅₀ berturut-turut sebesar 17,91% dan 8,667. Rancangan faktorial 3 faktor menunjukkan hanya jenis pelarut dan temperatur ekstraksi yang berpengaruh terhadap nilai EC₅₀. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak kulit buah manggis positif terhadap uji flavonoid dan polifenol, sedangkan hasil uji FTIR menunjukkan adanya gugus C=C, O-H, C-O dan cincin aromatik. Hasil uji GC-MS menunjukkan adanya senyawa asam heksadekanoat, asam oleat dan katekin pada ekstrak kulit buah manggis. Senyawa xanthone yang merupakan antioksidan terbesar yang terdapat di kulit buah manggis tidak terdeteksi yang kemungkinan besar disebabkan karena bentuknya yang masih berupa senyawa kompleks glikosida dan belum terhidrolisis.

Kata kunci : kulit buah manggis, ekstraksi, antioksidan, DPPH, FTIR, GC-MS, fitokimia

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah terjadinya kerusakan diakibatkan oleh radikal bebas dengan jalan meredam aktivitas radikal bebas atau memutus rantai reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Penggunaan antioksidan sintetik dewasa ini mulai mendapat perhatian serius karena ada yang bersifat merugikan dan karsinogenik. Oleh karena itu saat ini tengah digalakkan pengembangan antioksidan yang berasal dari alam, yang relatif lebih mudah didapat dan aman dikonsumsi manusia.

Dari data Badan Pusat Statistik sepanjang tahun 2000 – 2009, produksi buah manggis di Indonesia dapat dilihat pada Tabel 1.1 dibawah ini. Dari 105.558 ton buah manggis yang diproduksi di Indonesia, sekitar 35.484 ton diantaranya diproduksi di provinsi Jawa Barat.

Tabel 1.1 Produksi Manggis di Indonesia ^[1]

Tahun	Produksi Manggis
2000	26.400
2001	25.812
2002	62.055
2003	79.073
2004	62.117
2005	64.711
2006	72.634
2007	112.722
2008	65.133
2009	105.558

Selama ini pemanfaatan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) di Indonesia untuk penyamakan kulit, sebagai zat warna untuk makanan dan industri tekstil. Sedangkan getah kuningnya dimanfaatkan sebagai bahan baku cat dan insektisida, selain itu air rebusan kulit buah manggis memiliki efek anti diare ^[2]. Padahal ada senyawa lain yang terkandung dalam kulit buah manggis yaitu *xanthone* yang meliputi *mangostin*, *mangosterol*, *mangostinon A* dan *B*, *trapezifolixanthone*, *tovophyllin B*, *alfa* dan *beta mangostin*, *garcinon B*, *mangostanol*, *flavonoid epikatekin*, dan *gartanin*. Senyawa *xanthone* pada kulit buah manggis merupakan antioksidan tingkat tinggi karena kandungan antioksidannya 66,7 kali wortel dan 8,3 kali jeruk ^[2], selain itu sifat antioksidannya melebihi vitamin E dan vitamin C ^[3]. Oleh karena itu *xanthone* sangat

dibutuhkan dalam tubuh sebagai penyeimbang prooxidant (*oxidizing radicals, carbon centered, sinar UV, metal, dll*).

Xanthone mampu mengikat oksigen bebas yang tidak stabil yaitu radikal bebas perusak sel di dalam tubuh sehingga *xanthone* dapat menghambat proses degenerasi (kerusakan) sel. *Xanthone* juga merangsang regenerasi (pemulihan) sel tubuh yang rusak dengan cepat sehingga membuat awet muda. Selain itu *xanthone* juga efektif mengatasi sel kanker dengan mekanisme apoptosis (bunuh diri sel) yaitu dengan memaksa sel memuntahkan cairan dalam mitokondria sehingga sel kanker mati. Senyawa *xanthone* juga mengaktifkan sistem kekebalan tubuh dengan merangsang sel pembunuh alami (*natural killer cell* atau *NK cell*) dalam tubuh. *NK cell* itulah yang secara alami bertugas membunuh sel kanker dan virus yang masuk dalam tubuh manusia.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut (methanol, air, metanol-air), F:S (1:7), (1:10), (1:15) dan temperatur (suhu kamar), (35⁰C) dan (45⁰C) dalam proses ekstraksi kulit buah manggis terhadap aktivitas antioksidan. Selain itu juga untuk mengetahui apakah ada interaksi antara jenis pelarut, F:S dan temperatur terhadap aktivitas antioksidan dalam proses ekstraksi kulit buah manggis.

1.3 Urgensi (Keutamaan) Penelitian

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Senyawa fenol sintetis seperti Butil hidroksianisol (BHA) dan Butil hidroksitoluen (BHT) bukan antioksidan yang baik, sebab pada pemaparan yang lama dapat menyebabkan efek negatif terhadap kesehatan serta meningkatkan terjadinya karsinogenesis. Antioksidan alami adalah antioksidan hasil ekstraksi bahan alam seperti vitamin C, vitamin E, antosianin, klorofil dan flavonoid memiliki efek samping merugikan yang lebih kecil, tetapi aktivitasnya lebih tinggi daripada antioksidan sintetik ^[4].

Pemilihan kulit buah manggis untuk diekstrak antioksidannya selain untuk menghasilkan produk zat antioksidan alami yaitu *xanthone* juga bertujuan untuk mengoptimalkan pemanfaatan limbah pertanian berupa kulit manggis yang beratnya mencapai lebih dari 50% untuk setiap buah manggis. Kandungan senyawa antioksidan *xanthone* pada kulit buah manggis adalah 27 kali daripada yang ada pada daging buah manggis. Kulit buah manggis banyak mengandung *pectin*,

tannin, catechin, resin, zat pewarna, dan getah yang warnanya kuning. Kulit buah manggis memiliki potensi yang sangat besar dari segi kesehatan maupun segi komersial. Satu kilo ekstrak kulit buah manggis yang diperoleh dari 10 kg kulit kering harganya US\$ 62,5 atau setara dengan Rp 650.000. Satu kilo kulit kering berasal dari 4 kg kulit segar.

Di Malaysia ekstrak kulit buah manggis dipakai sebagai bahan baku farmasi, jus, kosmetik, dan pewarna. Di luar negeri ekstrak kulit buah manggis telah dikemas dalam bentuk kapsul dan pada label dari kemasan tersebut dijelaskan bahwa ekstrak kulit buah manggis dapat mengatasi berbagai penyakit yaitu: *antiviral, anticancer, antitumor, antimicrobial, antihepatotoxic, antifungal, antiinflammatory, antibacterial, antiallergic* dan *antirhinoviral*.

Di Amerika Serikat dan Eropa, banyak penelitian yang sudah menunjukkan bahwa kulit buah manggis memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Kulit manggis mengandung antioksidan 17.000-20.000 orac per 100 ounce, sedangkan sayur dan buah berkadar antioksidan tinggi seperti wortel dan jeruk masing-masing hanya 300 orac dan 2.400 orac. Orac (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) yaitu kemampuan antioksidan menetralkan radikal bebas penyebab penyakit degeneratif seperti jantung, stroke, dan kanker.

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron sel tersebut, dan mengakibatkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru ^[5].

Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas dengan cara mengurangi konsentrasi oksigen, mencegah pembentukan singlet oksigen yang reaktif, mencegah inisiasi rantai pertama dengan menangkap radikal primer seperti radikal hidroksil, mengikat katalis ion logam, mendekomposisi produk-produk primer radikal menjadi senyawa non-radikal, dan memutus rantai hidroperoksida ^[6]. Dari penelitian-penelitian sebelumnya dapat diambil kesimpulan bahwa perbedaan struktur antioksidan berpengaruh terhadap daya antioksidan. Senyawa BHT dengan substituen *t*-butil pada dua posisi *ortho* dan *para*-nya menyumbang aktivitas antioksidan lebih kuat dibanding dengan BHA. Senyawa fenol tersubstitusi telah banyak digunakan sebagai antioksidan dan banyak terdapat pada berbagai tumbuhan tropis berupa senyawa turunan polifenol seperti flavonoid, flavon, flavonol, dll. ^[7]. Senyawa polifenol yang memiliki bioaktivitas ini banyak ditemukan pada senyawa *xanthone* dengan gugus isoprene.

Untuk uji aktivitas antioksidan digunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). DPPH adalah radikal bebas stabil berwarna ungu yang digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam seperti komponen fenolik, antosianin atau ekstrak kasar. Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti transfer hidrogen sekaligus juga untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas. Senyawa yang aktif sebagai antioksidan mereduksi radikal bebas DPPH menjadi *difenil pikril hidrazin*. Besarnya aktivitas penangkap radikal bebas dinyatakan dengan EC50 yaitu besarnya konsentrasi larutan uji yang mampu menurunkan 50% absorbansi DPPH dibandingkan dengan larutan blanko. Metode ini sangat cocok untuk skrining awal berbagai sampel terutama ekstrak tumbuhan karena hasilnya terbukti akurat, reliabel, relatif cepat dan praktis [8].

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dan dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi meliputi tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut dan tipe pelarut [9].

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain harganya murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Jadi pelarut polar akan cenderung lebih melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar atau disebut dengan “*like dissolves like*” [10].

Xanthone merupakan substansi kimia alami yang berhubungan dekat dengan flavonoid dan tergolong senyawa *phenol* atau *polyphenolic*. Senyawa *xanthone* dan derivatnya dapat diisolasi dari kulit buah manggis (*pericarp*). Seperti halnya flavonoid, *xanthone* dimungkinkan terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida, yang berikatan dengan suatu gula. Karena itu biasanya *xanthone* dalam tumbuhan bersifat polar. Sesuai dengan hukum kelarutan *like dissolves like*, artinya kelarutan akan terjadi bila memiliki sifat kepolaran yang sama. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan jenis pelarut polar yaitu metanol, air, dan campuran

metanol-air (9:1). Dalam penelitian ini juga dikaji pengaruh F:S (1:7), (1:10), (1:15) dan temperatur ekstraksi (suhu kamar), (35⁰C) dan (45⁰C) terhadap aktivitas antioksidan.

Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mencari antioksidan yang efektif dan dapat digunakan oleh manusia. Antioksidan alami umumnya berbentuk cairan pekat dan sensitif terhadap pemanasan. Antioksidan dapat rusak karena suhu tinggi dan mudah teroksidasi. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji kandungan dan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam kulit buah manggis menggunakan proses ekstraksi secara sederhana sehingga dapat menambah sumber antioksidan alami yang sangat dibutuhkan untuk kesehatan manusia.

Penelitian ini juga ditujukan untuk mengidentifikasi substansi antioksidan yang berasal dari limbah kulit buah manggis yang sangat potensial dan perlu dieksplorasi lebih lanjut untuk mendapatkan alternatif senyawa antioksidan alami penangkap radikal bebas yang aman dan aktivitas antioksidannya besar.

BAB II. STUDI PUSTAKA

2.1. Tanaman Manggis

Garcinia mangostana L. merupakan nama latin yang diberikan untuk tanaman manggis (Gambar 2.1), yaitu tanaman buah yang berasal dari hutan tropis di kawasan Asia Tenggara (Malaysia atau Indonesia). Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti Manggu (Jawa Barat), Manggis (Jawa), Manggusto (Sulawesi Utara), Mangustang (Maluku) dan Manggih (Sumatera Barat) ^[11].



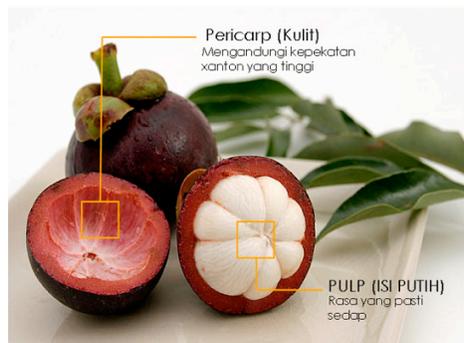
Gambar 2.1 Tanaman manggis

Buah manggis merupakan spesies terbaik dari genus *Garcinia* dan mengandung gula sakarosa, dekstrosa dan levulosa. Dari beberapa penelitian, dapat diketahui komposisi nutrisi dari buah manggis per 100 gram-nya, yang dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi Nutrisi per 100 gram Buah Manggis ^[12]

Kadar Air (%)	80,2 – 84,9
Energi (kal)	60 -63
Protein (g)	0,5 – 0,6
Lemak (g)	0,1 – 0,6
Karbohidrat(g)	14,3 -15,6
Serat (g)	5 – 5,1
Kalsium (mg)	0,01 - 8
Fosfor (mg)	0,02 -12
Besi (mg)	0,2 - 12
Vitamin B1 (mg)	0,03
Vitamin B2 (mg)	0,03
Vitamin B5/ niasin (mg)	0,03
Vitamin C (mg)	4,2

Menurut Qosim, 2007 ^[2] diketahui komposisi bagian buah yang dimakan per 100 gram meliputi 79,2 gram air, 0,5 gram protein, 19,8 gram karbohidrat, 0,3 gram serat, 11 mg kalsium, 17 mg fosfor, 0,9 mg besi, 14 IU vitamin A, 66 mg vitamin C, vitamin B₁ (thiamin) 0,09 mg, vitamin B₂ (riboflavin) 0,06 mg, dan vitamin B₅ (niasin) 0,1 mg ^[2]. Daging buah manggis berwarna putih, bertekstur halus dan rasanya manis bercampur asam sehingga menimbulkan rasa khas dan segar. Bentuk fisik dari buah dan kulit manggis disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Buah dan kulit manggis

Buah manggis termasuk buah eksotik yang sangat digemari oleh konsumen karena rasanya lezat, bentuk buah yang indah dan tekstur daging buah yang putih halus sehingga manggis mendapat julukan *Queen of Tropical Fruit*. Secara tradisional buah manggis adalah obat sariawan, wasir, dan luka.

Kulit buah manggis dimanfaatkan sebagai pewarna, termasuk untuk tekstil, dan air rebusannya dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit disentri. Sedangkan di Thailand, kulit buah manggis sudah menjadi ramuan tradisional turun menurun untuk mengobati infeksi pada kulit, luka dan diare ^[1]. Bahkan di negara maju seperti di Amerika Serikat, ekstrak dari kulit manggis sudah menjadi suplemen diet yang dianjurkan oleh Food and Drug Administration (FDA) atau Badan Pengawas Obat dan Makanan Pemerintah Amerika Serikat karena potensial sebagai antioksidan ^[13].

Secara umum, kandungan kimia yang terdapat dalam kulit manggis adalah *xanthone*, *mangostin*, *garsinon*, *flavonoid*, dan *tannin* ^[14]. Senyawa *xanthone* mempunyai kemampuan sebagai antioksidan, antibakteri, antifungi, antiinflamasi, bahkan dapat menjadi penghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

2.2. Antioksidan pada Kulit Buah Manggis

Oksidasi adalah jenis reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen, atau pelepasan elektron. Proses oksidasi adalah peristiwa alami yang terjadi di alam dan dapat terjadi dimana-mana tak terkecuali di dalam tubuh kita. Antioksidan bersifat sangat mudah teroksidasi atau bersifat reduktor kuat dibanding dengan molekul yang lain. Jadi keefektifan antioksidan bergantung dari seberapa kuat daya oksidasinya dibanding dengan molekul yang lain. Semakin mudah teroksidasi maka semakin efektif antioksidan tersebut [15].

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi makanan atau obat. Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi sel melawan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas (*Reactive Oxygen Species*), seperti singlet oksigen, superoksid, radikal peroksid dan radikal hidroksil [8]. Bahan pangan mengandung senyawa-senyawa yang tidak dikategorikan sebagai zat gizi, tetapi mempunyai aktivitas antioksidan seperti yang terlihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Senyawa antioksidan dalam bahan pangan [16].

Jenis Antioksidan	Contoh Bahan Pangan
Biogenik amin	Antioksidan berdasarkan fungsi amin dan fenol, contohnya dalam keju
Senyawa Fenol :	
- Tirosol, hidroksitirosol	Minyak olive
- Vanilin, asam vanilat	Panili
- Timol	Minyak atsiri dari <i>thyme</i>
- Karpakrol	Minyak <i>thyme</i>
- Gingerol	Minyak jahe
- Zingeron	Jahe
Senyawa Polifenol :	
- Flavonoid	Efektivitas sebagai antioksidan tergantung pada jumlah dan posisi OH, senyawa polifenol banyak terdapat dalam sayur-sayuran daun
- Flavon, flavonol	
- Heterosida flavonoat	
- Kalkon auron	
- Biflavonoid	
Tanin :	
- Asam galat, asam Elagat	Banyak terdapat dalam teh, sayuran dan buah-buahan
- Proantosianidol	
Komponen tetrapirolik :	
- Klorofil	Antioksidan sinar, banyak terdapat dalam sayur-sayuran (hijau) dan ganggang
- Virofeofitin	

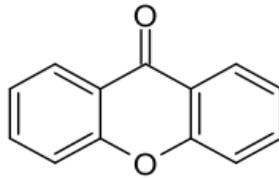
Sumber : Belleville-Nobet (1996).

Fungsi paling efektif dari antioksidan dalam menghambat terjadinya oksidasi adalah dengan menghentikan reaksi berantai dari radikal-radikal bebas (*primary antioxidant*). Berkaitan dengan fungsinya senyawa antioksidan dapat diklasifikasikan dalam 5 tipe antioksidan yaitu:

- a) *Primary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini, misalnya BHA (*butyl hidroksilanisol*), BHT (*butyl hydrotoluen*), dan tokoferol.
- b) *Oxygen scavengers*, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbil palminat, asam eritorbat, dan sulfit.
- c) *Secondary antioxidant*, yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk berdekomposisi hidropoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan poliolefin resin. Contohnya yaitu asam tiopropionat dan dilauril tiopropionat.
- d) *Antioxidative Enzyme*, yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya *glukose oksidase*, *superoksidase dismutase (SOD)*, *glutation peroksidase* dan katalase.
- e) *Chelators sequestrants*, yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalisa reaksi oksidasi lemak. Senyawa yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, *ethylenediaminetetra acetid acid (EDTA)*, dan fosfolipid.

Senyawa antioksidan terkuat, yang terdapat dalam kulit manggis adalah senyawa *xanthone* yang merupakan senyawa organik turunan dari *difenil- γ -pyron*. Senyawa *xanthone* merupakan substansi kimia alami yang dapat digolongkan dalam senyawa jenis fenol atau *polyphenolic*. Karena itulah, senyawa *xanthone* dapat digolongkan sebagai senyawa polar. Senyawa ini memiliki rumus molekul $C_{13}H_8O_2$, sehingga memiliki massa molar sebesar 196,19

gram/ mol. Dalam penamaan menurut IUPAC, senyawa ini diberi nama *9H-xanthen-9-one*. Gambar 2.3 menunjukkan struktur senyawa *xanthone*.



Gambar 2.3 Struktur senyawa *xanthone*

2.2.1 Poliphenol

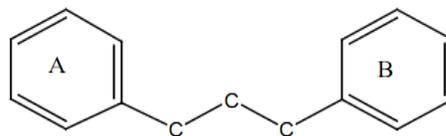
Polifenol adalah kelompok antioksidan yang secara alami ada di dalam sayuran (brokoli, kol, seledri), buah-buahan (apel, delima, melon, ceri, pir, dan stroberi), kacang-kacangan (walnut, kedelai, kacang tanah), minyak zaitun, dan minuman (seperti teh, kopi, cokelat dan anggur merah/red wine). Polifenol umumnya banyak terkandung dalam kulit buah. Senyawa polifenol terdiri dari beberapa subkelas yakni, flavonol, isoflavon (dalam kedelai), flavanon, antosianidin, katekin, dan biflavan. Turunan dari katekin seperti epikatekin, epigalo-katekin, apigalo-katekin galat, dan quercetin umumnya ditemukan dalam teh dan apel. Dua unsur terakhir merupakan antioksidan kuat, dengan kekuatan 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E yang dikenal sebagai antioksidan potensial. Jenis polifenol lain adalah tanin yang banyak terkandung dalam teh dan cokelat.

Secara umum kekuatan senyawa fenol sebagai antioksidan tergantung dari beberapa faktor seperti ikatan gugus hidroksil pada cincin aromatik, posisi ikatan, posisi hidroksil bolak balik pada cincin aromatik dan kemampuannya dalam memberi donor hidrogen atau elektron serta kemampuannya dalam "merantas" radikal bebas (*free radical scavengers*). Semua polifenol mampu "merantas" oksigen dan radikal alkil dengan memberikan donor elektron sehingga terbentuk radikal fenoksil yang relatif stabil. Ada hubungan antara kemampuan senyawa fenol sebagai antioksidan dan struktur kimianya. Konfigurasi dan total gugus hidroksil merupakan dasar yang sangat mempengaruhi mekanisme aktivitasnya sebagai antioksidan ^[17].

2.2.2 Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Pigmen/ zat warna yang terdapat dalam tumbuh – tumbuhan seperti zat warna merah, ungu, biru, kuning, dan hijau tergolong senyawa flavonoid.

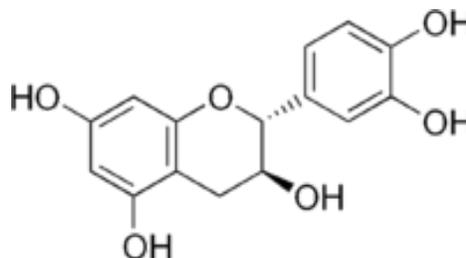
Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon (C6-C3-C6), terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon (Gambar 2.4). Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. Kebanyakan senyawa terkonjugasi pada umumnya berwarna cerah sehingga menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak ^[18].



Gambar 2.4 Kerangka dasar senyawa flavonoid

Di dalam tumbuhan flavonoid biasanya berikatan dengan gula sebagai glikosida. Molekul yang berikatan dengan gula tadi disebut glikon. Aglikon flavonoid yaitu molekul yang tidak berikatan dengan gula adalah polifenol. Flavonoid mudah mengalami perusakan karena panas, kerja enzim dan pH ^[8].

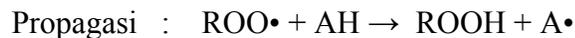
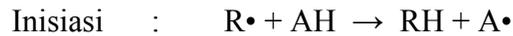
Senyawa *Catechin* yang banyak terdapat pada buah – buahan, termasuk manggis dapat digolongkan sebagai senyawa flavonoida, dari sub kelas *Flavan-3-ol*. Struktur senyawa *catechin* dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur senyawa *Catechin*

2.3. Mekanisme Kerja Antioksidan

Sesuai mekanisme kerjanya antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberi atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ($R\bullet$, $ROO\bullet$) atau mengubahnya ke bentuk stabil, sementara turunan radikal antioksidan ($A\bullet$) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipid. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju antioksidan dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai oksidasi dengan mengubah radikal lipida ke bentuk lebih stabil [8]. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan ($A\bullet$) yang terbentuk pada reaksi tersebut stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru. Radikal-radikal antioksidan dapat saling membentuk produk non radikal. Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipid adalah sebagai berikut :



2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau gugus apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Karena jumlah elektron ganjil, maka tidak semua elektron dapat berpasangan. Suatu radikal bebas dapat bermuatan positif atau negatif, maka spesies semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron tidak berpasangan. Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran), protein, karbohidrat, dan lemak yang kita konsumsi.

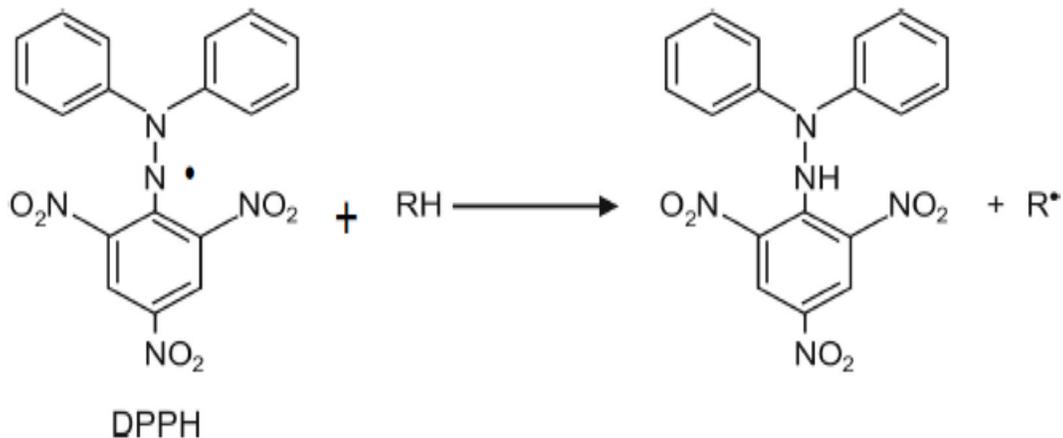
Radikal bebas dapat pula diperoleh luar tubuh (eksogen) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan, berbagai bahan kimia, makanan, yang telah hangus (*carbonated*). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh akan merusak sel target seperti lemak, protein, karbohidrat dan DNA. Radikal bebas disebut juga sebagai spesies oksigen yang reaktif (ROS), suatu istilah yang mencakup semua molekul yang berisi oksigen yang sangat reaktif. Istilah ROS merupakan radikal oksigen yang memusat seperti superoksida (O_2) dan hidroksil (OH) dan juga spesies bukan

radikal yang berasal dari oksigen seperti hidrogen peroksida (H₂O₂) singlet oksigen (¹O₂) dan asam hipoklorus (HOCl) [8].

2.5. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) untuk Uji Aktivitas Antioksidan

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan radikal bebas stabil berwarna ungu yang digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam seperti komponen fenolik. Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti transfer hidrogen sekaligus juga untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas dengan reaksi : $DPPH\cdot + AH \rightarrow DPPH-H + A\cdot$

Campuran reaksi berupa larutan sampel dan DPPH yang dilarutkan dalam etanol absolut dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan dibaca pada panjang gelombang 517 nm. Metode ini sering digunakan untuk mendeteksi kemampuan antiradikal suatu senyawa sebab hasilnya terbukti akurat, reliabel, relatif cepat dan praktis [8]. Sebagai akibatnya, penambahan senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal akan menurunkan konsentrasi DPPH ini. Adanya penurunan konsentrasi DPPH akan menyebabkan penurunan absorbansinya dibandingkan dengan absorbansi kontrol yang tidak diberi dengan senyawa uji yang diduga mempunyai aktivitas antiradikal. Mekanisme penghambatan radikal DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH

2.6. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi adalah ekstrak yang merupakan berwujud

seperti pasta kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani setelah pelarutnya diuapkan.

Syarat utama penggunaan pelarut untuk ekstraksi senyawa organik yaitu non toksik dan tidak mudah terbakar (*nonflammable*) walaupun persyaratan ini sangat sulit untuk dilaksanakan. Pelarut untuk ekstraksi senyawa organik terbagi menjadi golongan pelarut yang memiliki densitas lebih rendah dari pada air dan pelarut yang memiliki densitas lebih tinggi dari pada air. Kebanyakan pelarut senyawa organik termasuk dalam pelarut golongan pertama, seperti misalnya dietil eter, etil asetat, dan hidrokarbon (*light petroleum*, heksan dan toluen). Pelarut yang mengandung senyawa klorin seperti diklorometan adalah pelarut yang termasuk dalam golongan pelarut kedua. Pelarut ini memiliki toksisitas yang rendah tetapi mudah membentuk emulsi. Beberapa pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi diantaranya adalah metanol, etanol, etil asetat, aseton dan asetonitril dengan air dan atau HCl. Toksisitas pelarut yang digunakan merupakan hal yang penting untuk dipertimbangkan dalam ekstraksi antioksidan, karena zat antioksidan akan digunakan pada produk pangan fungsional sehingga keamanannya harus sangat diperhatikan.

Beberapa senyawa kimia yang dapat diekstrak oleh pelarut organik berdasarkan tingkat kepolaran pelarut tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Polaritas dan Senyawa Kimia yang Diekstrak oleh berbagai Pelarut Organik ^[19].

Polaritas	Pelarut	Senyawa Kimia yang Diekstraksi			
Non-polar	Light Petroleum	<i>Waxes</i>	Lemak	Minyak	Minyak atsiri
	Heksan	<i>Waxes</i>	Lemak	Minyak	Minyak atsiri
	Sikloheksan	<i>Waxes</i>	Lemak	Minyak	Minyak atsiri
	Toluen	Alkaloid	Lemak	Minyak	Minyak atsiri
	Kloroform	Alkaloid	Aglikon		Minyak atsiri
Semi-polar	Diklorometan	Alkaloid	Aglikon		Minyak atsiri
	Dietil eter	Alkaloid	Aglikon		
	Etil asetat	Alkaloid	Aglikon	Glikosida	
	Aseton	Alkaloid	Aglikon	Glikosida	
	Etanol			Glikosida	
	Metanol	Gula	Asam amino	Glikosida	
Polar	Air	Gula	Asam amino	Glikosida	
	<i>Aqueous water</i>	Gula	Asam amino		Basa
	<i>Aqueous alkali</i>	Gula	Asam amino		Asam

Sumber : Houghton dan Rahman (1998).

Proses ekstraksi kulit manggis untuk mendapatkan zat antioksidan biasanya menggunakan proses maserasi yaitu cara ekstraksi sederhana untuk mengekstrak simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan pelarut. Prinsip maserasi adalah mengekstraksi komponen yang terkandung dan dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut yang sesuai pada temperatur kamar terlindung dari cahaya, cairan pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana. Sedang kerugiannya adalah cairan pelarut yang digunakan lebih banyak ^[9]. Untuk mendapatkan antioksidan dari tumbuh-tumbuhan dilakukan ekstraksi dengan pelarut berdasarkan tingkat kelarutan senyawa tersebut. Senyawa alkoholik seperti etanol, metanol, dan propanol merupakan pelarut untuk mengekstraksi semua golongan flavonoid. Pelarut yang lebih polar digunakan untuk mengekstraksi glikosida flavonoid.

2.7. Hasil Penelitian tentang Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis

1) Penelitian Efri Mardawati (2008) ^[20].

- a) Kulit buah manggis yang telah terkumpul, dibersihkan dari kotoran, kemudian dipotong kecil – kecil dan dijemur sampai kandungan air kira-kira 8-10%.
- b) Proses ekstraksi antioksidan dari kulit manggis dilakukan dengan cara maserasi selama minimal 3 hari. Kurang lebih 100 gram sampel kulit manggis dimaserasi dalam 1– 2 liter pelarut.
- c) Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi antioksidan dari kulit manggis biasanya berupa etanol, metanol dan etil asetat
- d) Setelah proses maserasi selesai, larutan yang diperoleh disaring vakum dengan kertas saring dan dipekatkan dengan rotavapor vakum pada suhu 50⁰C.
- e) Uji Aktivitas Antioksidan dapat dilakukan dengan metode DPPH dan pelarut metanol memiliki nilai EC₅₀ paling kecil jika dibandingkan dengan etanol dan etil asetat.

2) Penelitian Primchanien Moongkarndi (2004) ^[21].

- a) Kulit buah manggis dilakukan proses pre-treatment terlebih dahulu dengan cara dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 hari
- b) Serbuk kulit manggis (kurang lebih 1 kilogram) dimaserasi selama 7 hari dengan metanol absolut sebanyak 1 liter.
- c) Pemekatan dilakukan pada suhu 75⁰C selama 4 jam.

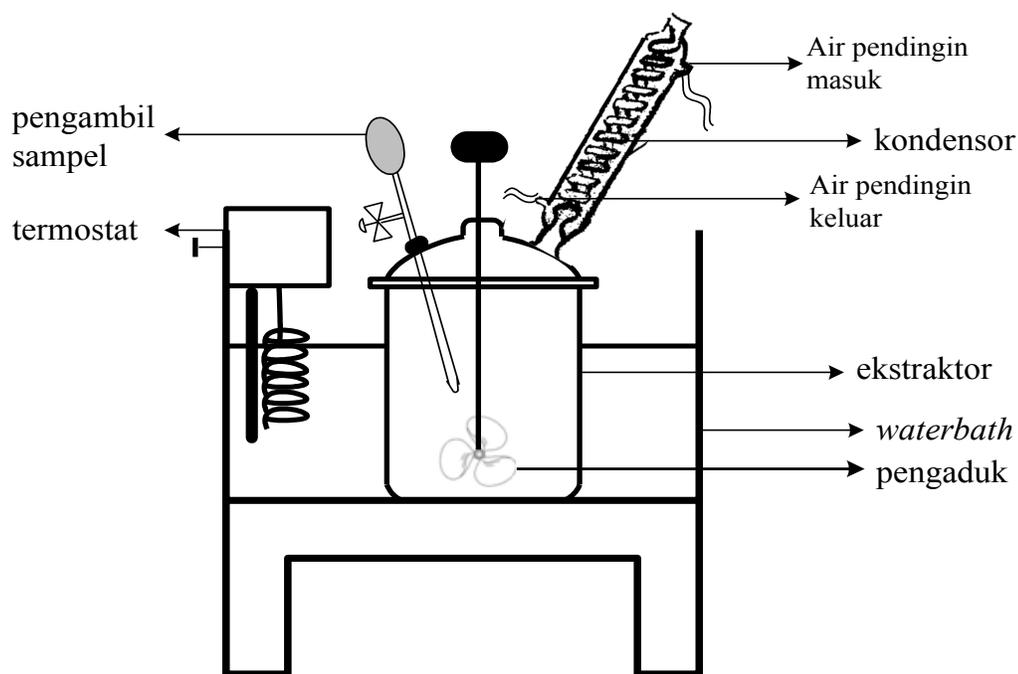
3) Penelitian Ivan Surya Pradipta (2005) ^[22].

- a) Kulit manggis yang akan diekstraksi, diperkecil terlebih dahulu ukurannya sampai batas ukuran tertentu
- b) Serbuk kulit manggis sebanyak 1 kg, ditempatkan dalam maserator yang bagian dasarnya dilapisi kapas, digunakan pelarut metanol – air (perbandingan 9:1) sebanyak 3 liter.
- c) Maserator didiamkan selama 1 hari, sambil sesekali dilakukan pengadukan.
- d) Proses pemekatan dilakukan dengan *rotary evaporator*, kemudian dihidrolisis menggunakan HCl 2N selama 60 menit pada suhu titik didih pelarut.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Bahan dan Peralatan

Bahan baku utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis dan bahan kimia metanol, air, metanol-air serta DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Sedangkan peralatan yang digunakan adalah rangkaian ekstraktor batch, termostat, *waterbath*, evaporator vakum, neraca analitik, oven, spektrofotometer, *moisture analyzer*. Rangkaian ekstraktor model batch dapat dilihat pada Gambar 3.1.

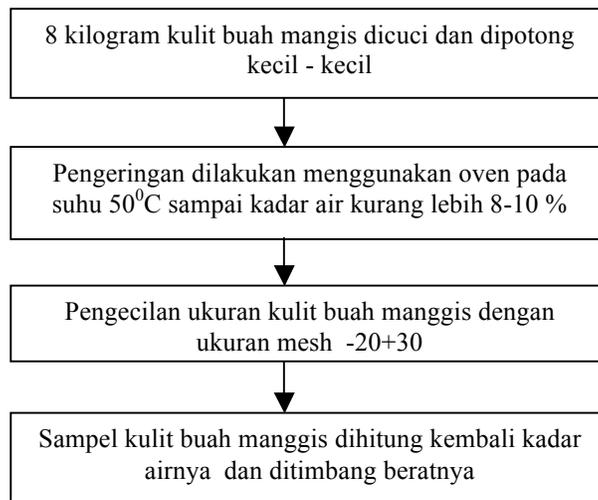


Gambar 3.1 Rangkaian ekstraktor model batch

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Penyiapan Sampel

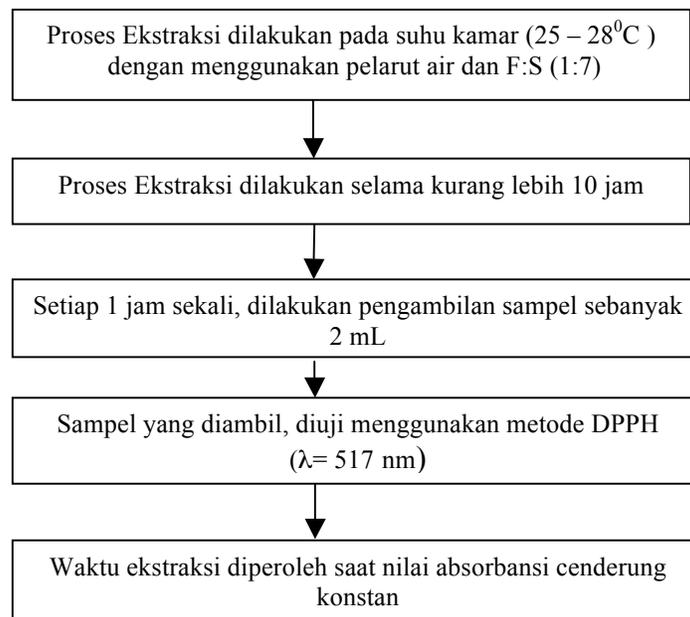
Perlakuan awal yang dilakukan adalah pemilihan buah manggis berkualitas baik (diameternya > 65 mm dan warna kulit ungu kehitaman). Kulit buah manggis diproses melewati tahapan penyiapan sampel seperti Gambar 3.2



Gambar 3.2 Diagram alir penyiapan sampel

3.2.2 Penelitian Pendahuluan

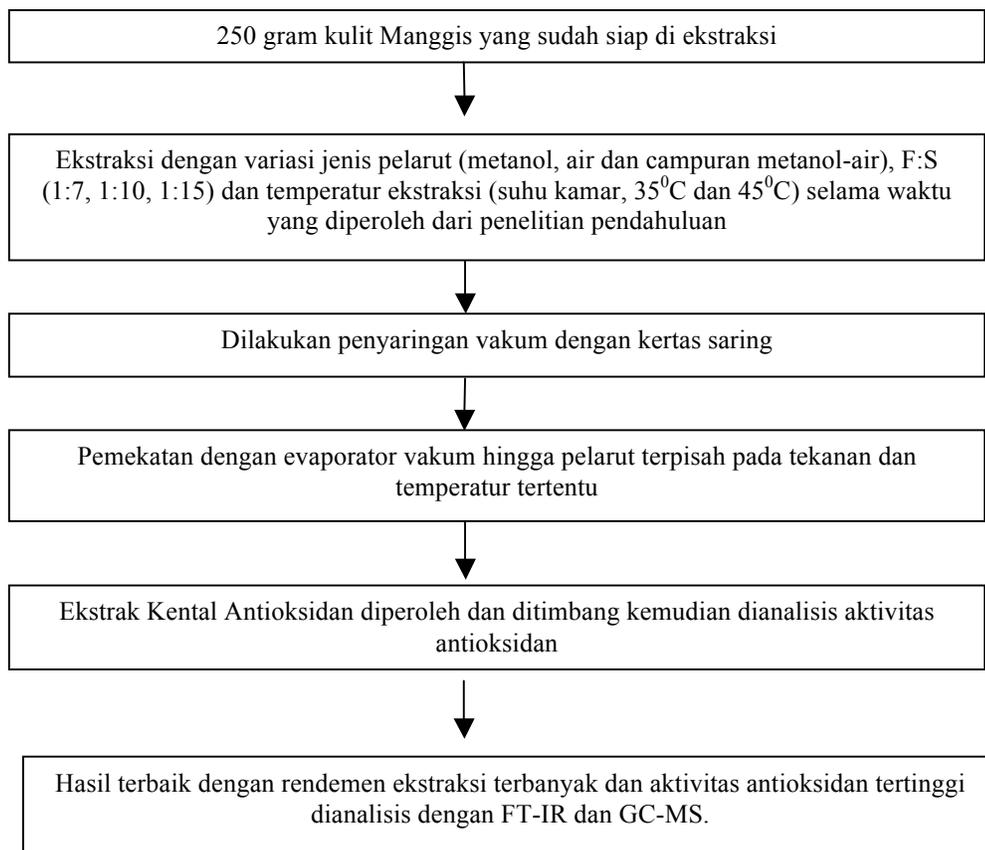
Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui perkiraan waktu yang dapat mewakili lamanya proses ekstraksi dan dilakukan seperti pada Gambar 3.3 .



Gambar 3.3 Diagram alir penelitian pendahuluan

3.2.3 Penelitian Utama

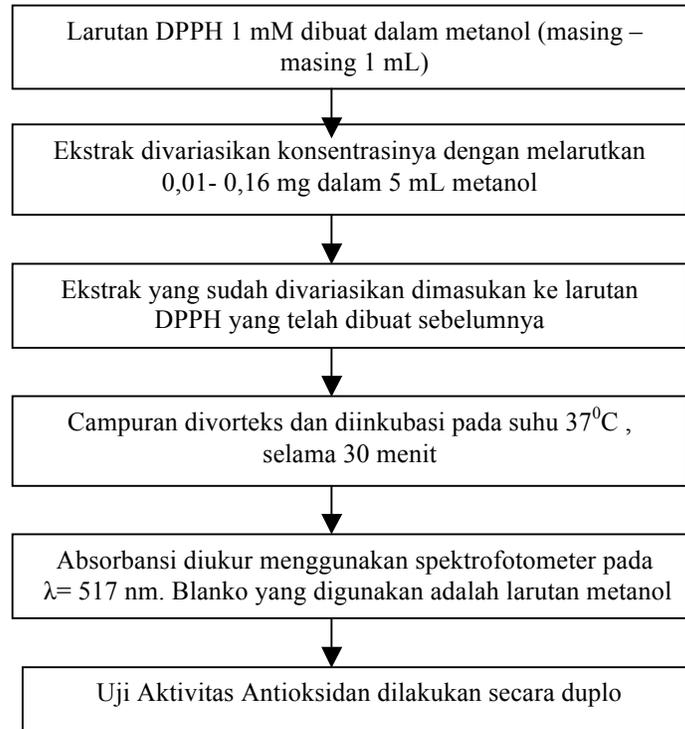
Penelitian utama dilakukan dengan variasi 3 jenis pelarut yaitu metanol, air dan campuran metanol-air (9:1). Selain itu, dilakukan variasi F : S (1:7), (1:10), (1:15) dan variasi temperatur ekstraksi pada suhu kamar, 35⁰C dan 45⁰C. Ekstrak kasar kulit buah manggis yang mengandung antioksidan dengan rendemen ekstraksi dan aktivitas antioksidan yang tertinggi diidentifikasi jenis gugus fungsionalnya dengan FT-IR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) dan diidentifikasi jenis kandungan antioksidannya dengan GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*). Gambar 3.4 menunjukkan diagram alir penelitian utama.



Gambar 3.4 Diagram alir penelitian utama

3.2.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Setelah proses ekstraksi dan pemekatan selesai, tahapan berikutnya adalah pengujian aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kulit manggis. Metode yang digunakan adalah metode DPPH. Cara kerja pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 3.5 .



Gambar 3.5 Diagram Alir Uji Aktivitas Antioksidan

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan percobaan faktorial tiga faktor. Rancangan ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh tiga faktor (variabel) dan interaksi ketiganya. Tabel 3.1 menunjukkan matriks rancangan percobaan faktorial tiga faktor.

Tabel 3.1 Matriks rancangan percobaan faktorial 3 faktor pada penelitian utama

Jenis pelarut	Suhu kamar			Suhu (35 ⁰ C)			Suhu (45 ⁰ C)		
	F:S (1:7)	F:S (1:10)	F:S (1:15)	F:S (1:7)	F:S (1:10)	F:S (1:15)	F:S (1:7)	F:S (1:10)	F:S (1:15)
Metanol	A1B1C1	A1B1C2	A1B1C3	A1B2C1	A1B2C2	A1B2C3	A1B3C1	A1B3C2	A1B3C3
Air	A2B1C1	A2B1C2	A2B1C3	A2B2C1	A2B2C2	A2B2C3	A2B3C1	A2B3C2	A2B3C3
Metanol-Air	A3B1C1	A3B1C2	A3B1C3	A3B2C1	A3B2C2	A3B2C3	A3B3C1	A3B3C2	A3B3C3

Semua nilai EC₅₀ dimasukkan ke dalam matriks rancangan percobaan dan kemudian dilakukan analisis varian rancangan percobaan untuk mengetahui pengaruh 3 faktor (jenis pelarut, F:S dan temperatur) dan interaksi diantara ketiganya.

Tabel 3.3 Analisis varian rancangan percobaan faktorial 3 faktor

Variasi	Jumlah kuadrat	DOF	Kuadrat rata-rata	Fo
Perlakuan A	SS_A	a-1	MS_A	MS_A/MS_E
Perlakuan B	SS_B	b-1	MS_B	MS_B/MS_E
Perlakuan C	SS_C	c-1	MS_C	MS_C/MS_E
Interaksi AB	SS_{AB}	(a-1)(b-1)	MS_{AB}	MS_{AB}/MS_E
Interaksi AC	SS_{AC}	(a-1)(c-1)	MS_{AC}	MS_{AC}/MS_E
Interaksi BC	SS_{BC}	(b-1)(c-1)	MS_{BC}	MS_{BC}/MS_E
Interaksi ABC	SS_{ABC}	(a-1)(b-1)(c-1)	MS_{ABC}	MS_{ABC}/MS_E
Kesalahan percobaan	SS_E	abc(n-1)	MS_E	
Total	SS_T	abcn-1		

Kemudian nilai F_o hasil perhitungan ini dibandingkan dengan F tabel. Ketika nilai $F_o > F$ tabel, maka variabel tersebut berpengaruh dan ada interaksi dan kemudian dilanjutkan pengujian LSD (*Least Significant Difference*), untuk mengetahui tingkat signifikansi perbedaan yang terjadi.

Rumus analisis LSD :

$$SE = \sqrt{\frac{MS_E}{n}} \quad LSD = SE \times F_{tabel}$$

- a) Jika beda dua nilai perlakuan $> LSD$ artinya kedua perlakuan tersebut berbeda secara nyata
- b) Jika beda dua nilai perlakuan $< LSD$ artinya kedua perlakuan tersebut tidak berbeda secara nyata

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penyiapan Sampel

Buah manggis yang digunakan sebagai bahan baku dalam penelitian ini diberi perlakuan awal yang meliputi pemisahan kulit dari buah manggis, pengecilan ukuran dengan menggunakan alat *grinder* dan *blender*, kemudian diayak menggunakan mesh -20+30. Setelah itu dilakukan pengeringan menggunakan oven pada temperatur 50⁰C dan pengecekan kadar air hingga kadar airnya \pm 8-10%. Pengecilan ukuran bertujuan untuk memperluas kontak antara padatan dan pelarut pada proses ekstraksi. Sedangkan tujuan pengeringan agar bahan baku dapat tahan lama serta mencegah terjadinya proses penjamuran. Alasan digunakan temperatur pengeringan yang tidak terlalu tinggi adalah untuk mencegah kemungkinan rusaknya senyawa antioksidan. Pada umumnya senyawa antioksidan rusak pada temperatur 60⁰ – 70⁰ C. Bahan baku kulit buah manggis yang telah mendapat perlakuan awal dapat dilihat pada Gambar 4.1

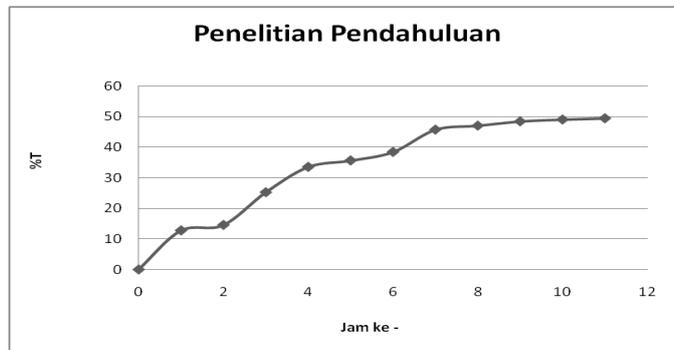


Gambar 4.1 Bahan baku kulit buah manggis

4.2 Penelitian Pendahuluan

Tujuan penelitian pendahuluan untuk menentukan perkiraan waktu ekstraksi yang dapat mewakili lamanya ekstraksi yang digunakan dalam penelitian utama. Proses ekstraksi pada penelitian pendahuluan dilakukan dengan

menggunakan pelarut air, pada temperatur kamar dan rasio F:S = 1:7. Dari penelitian pendahuluan, diperoleh data % transmittansi dan dari data tersebut dapat diperoleh grafik seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Kurva penelitian pendahuluan

Dari grafik di atas, dapat dilihat dari jam ke-0 sampai ke-6 terjadi peningkatan %T, sedangkan mulai dari jam ke-7 dan seterusnya, perubahan %T yang terjadi tidak terlalu ekstrim karena proses peredaman radikal bebas oleh antioksidan sudah tidak terlalu signifikan. Oleh karena itu dari penelitian pendahuluan ini dapat diketahui perkiraan waktu ekstraksi yang dapat mewakili keseluruhan penelitian adalah 7 jam.

4.3 Penelitian Utama

Pada penelitian utama dilakukan ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis secara batch dengan variasi jenis pelarut metanol, air dan campuran metanol-air (9:1). Selain itu juga dilakukan variasi F : S sebesar (1:7), (1:10) dan (1:15) serta variasi temperatur ekstraksi pada suhu kamar, 35⁰C dan 45⁰C. Setelah itu dilakukan penyaringan hasil ekstraksi secara vakum untuk pemisahan ekstrak dan rafinat. Ekstrak antioksidan yang diperoleh dipekatkan lebih lanjut dengan jalan penguapan pelarut menggunakan evaporator vakum.

4.3.1 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Tahapan pertama yang harus dilakukan untuk menentukan besarnya aktivitas antioksidan ini adalah memvariasikan konsentrasi sampel ekstrak antioksidan menggunakan pelarut metanol. Sampel yang sudah divariasikan dicampur dengan larutan DPPH yang telah dibuat sebelumnya. Campuran ini kemudian divorteks dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Hasil dari tahapan ini dapat dilihat pada Gambar 4.3.

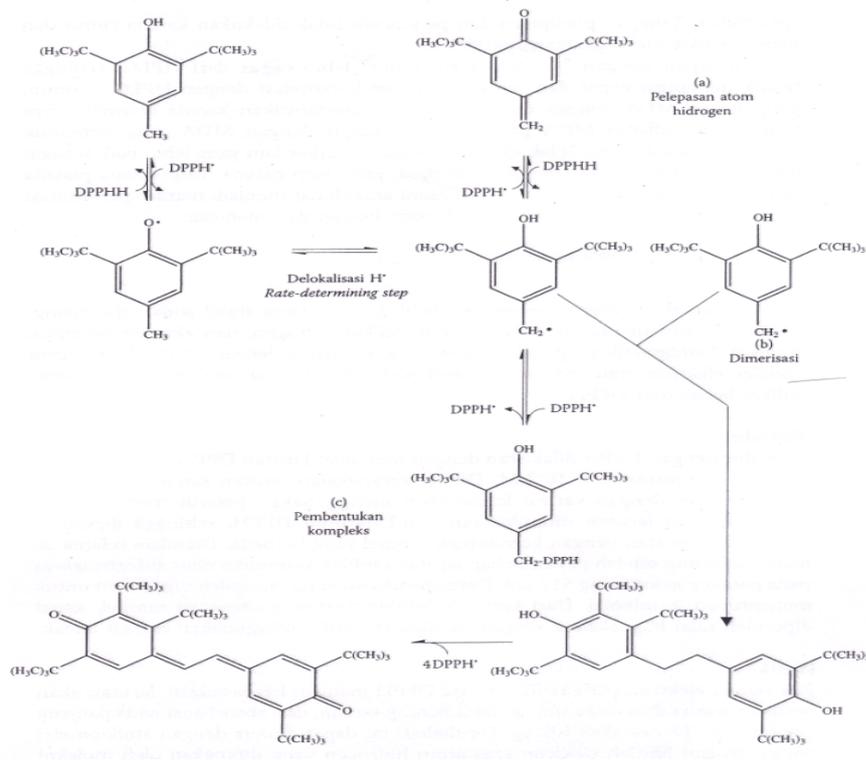


Gambar 4.3 Variasi Sampel dalam Uji DPPH

Keterangan: A= 8ppm, B= 12ppm, C= 16ppm, D= 20ppm, E= 24ppm

Gambar sebelah kiri merupakan variasi sampel ditambah DPPH sebelum divorteks dan diinkubasi berwarna ungu. Sedangkan gambar sebelah kanan adalah sampel ditambah DPPH setelah divorteks dan diinkubasi berwarna kekuningan. Jadi ada perubahan warna dari ungu menjadi kuning karena adanya reaksi antara antioksidan dengan DPPH. Jika dilihat dari konsentrasi sampel dapat terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel antioksidan maka warna larutan menjadi lebih kuning. Mekanisme reaksi antara DPPH dan sebuah senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Setelah semua variasi sampel direaksikan dengan DPPH, masing – masing sampel diukur absorbannya menggunakan spektrofotometer. Contoh hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

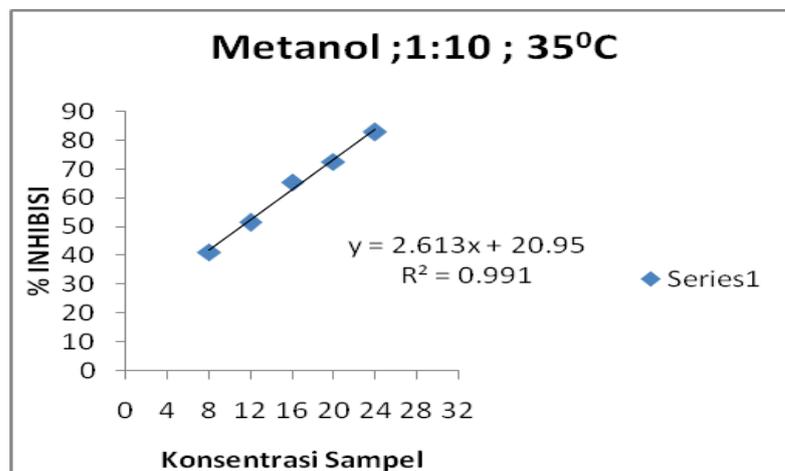


Gambar 4.4 Mekanisme Reaksi Antioksidan dengan DPPH

Tabel 4.1 Nilai Absorban dan % Inhibisi Sampel

No.	Konsentrasi Sampel	Reference Absorban	1,345 %Inhibisi
1	8 ppm	0,79	41,264
2	12 ppm	0,653	51,450
3	16 ppm	0,463	65,576
4	20 ppm	0,369	72,565
5	24 ppm	0,229	82,974

Dari Tabel 4.1, masing – masing sampel diukur absorbansinya dan kemudian dicari nilai % inhibisi (peredaman), dengan cara membandingkannya dengan absorban dari reference yaitu % inhibisi = $(reference - absorbance) / reference$. Reference adalah absorban larutan DPPH tanpa sampel antioksidan. Dari masing masing sampel dapat diketahui nilai % inhibisinya. Kemudian data diatas dibuat grafik yang dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kurva penentuan EC₅₀.

Persamaan garis dari semua run penelitian disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Persamaan garis hasil penelitian utama

Kondisi Penelitian	Persamaan Garis 1	Persamaan Garis 2
Metanol , 1:7 , Temperatur kamar	$y = 2,401 x - 15,29$	$y = 2,411 x - 15,82$
Metanol , 1:10 , Temperatur kamar	$y = 2,081 x - 4,529$	$y = 2,1 x - 5,155$
Metanol , 1:15 , Temperatur kamar	$y = 2,101 x + 2,895$	$y = 2,102 x + 27,46$
Metanol , 1:7 , 35 ⁰ C	$y = 2,532 x + 10,88$	$y = 2,532 x + 10,59$
Metanol , 1:10 , 35 ⁰ C	$y = 2,613 x + 20,95$	$y = 2,568 x + 21,63$
Metanol , 1:15 , 35 ⁰ C	$y = 1,46 x + 37,56$	$y = 1,464x + 37,09$
Metanol , 1:7 , 45 ⁰ C	$y = 3,237 x - 20,81$	$y = 3,235 x - 20,67$
Metanol , 1:10 , 45 ⁰ C	$y = 2,417 x - 3,621$	$y = 2,459 x - 3,097$
Metanol , 1:15 , 45 ⁰ C	$y = 3,106 x - 20,07$	$y = 3,106 x - 19,88$
Metanol-Air , 1:7 , Temperatur kamar	$y = 1,861 x + 26,74$	$y = 1,855 x + 26,74$
Metanol-Air , 1:10 , Temperatur kamar	$y = 1,811 x - 4,412$	$y = 1,621 x + 2,369$
Metanol-Air , 1:15 , Temperatur kamar	$y = 1,875 x - 8,765$	$y = 1,851 x - 7,594$
Metanol-Air , 1:7 , 35 ⁰ C	$y = 1,49 x - 3,734$	$y = 1,497 x - 3,899$
Metanol-Air , 1:10 , 35 ⁰ C	$y = 2,626 x - 19,12$	$y = 2,643 x - 19,86$
Metanol-Air , 1:15 , 35 ⁰ C	$y = 2,94 x - 6,522$	$y = 2,935 x - 6,382$
Metanol-Air , 1:7 , 45 ⁰ C	$y = 2,487 x - 0,869$	$y = 2,708 x - 3,286$
Metanol-Air , 1:10 , 45 ⁰ C	$y = 2,649 x - 11,24$	$y = 2,641 x - 10,85$
Metanol-Air , 1:15 , 45 ⁰ C	$y = 2,523 x - 10,34$	$y = 2,515 x - 10,03$
Air , 1:7 , Temperatur kamar	$y = 1,044 x - 3,896$	$y = 0,997 x - 3,741$
Air , 1:10 , Temperatur kamar	$y = 1,486 x - 12,65$	$y = 1,58 x - 12,6$
Air , 1:15 , Temperatur kamar	$y = 1,289 x - 5,397$	$y = 1,456 x - 9,807$
Air , 1:7 , 35 ⁰ C	$y = 1,435 x - 6,037$	$y = 1,396 x - 5,401$
Air , 1:10 , 35 ⁰ C	$y = 1,158 x + 4,447$	$y = 1,161 x + 4,464$
Air , 1:15 , 35 ⁰ C	$y = 1,038 x + 15,91$	$y = 1,063 x + 14,86$
Air , 1:7 , 45 ⁰ C	$y = 1,573 x - 11,45$	$y = 1,58 x - 11,58$
Air , 1:10 , 45 ⁰ C	$y = 1,633 x - 2,625$	$y = 1,636 x - 2,681$
Air , 1:15 , 45 ⁰ C	$y = 2,088 x + 1,185$	$y = 2,088 x + 1,034$

Dari persamaan diatas dapat diketahui nilai EC_{50} dengan memasukkan nilai 50 sebagai nilai sumbu Y, sehingga dapat diperoleh berapa besar nilai X yang akan merepresentasikan besaran EC_{50} . Sebagai contoh, dari gambar 4.4 dapat diperoleh nilai EC_{50} sebesar **11.117** ppm. Pengujian ini dilakukan secara duplo, dan dengan cara yang sama seperti diatas dapat diperoleh nilai EC_{50} yang kedua yaitu **11.048** ppm. Kemudian dihitung rata – rata nya dan diperoleh nilai EC_{50} sebesar **11.0825** ppm. Jadi untuk meredam radikal bebas sebesar 50%, dibutuhkan **11.0825** ppm antioksidan.

Dari literatur dapat diketahui bahwa jika nilai EC_{50} yang dihasilkan kurang dari 50, maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Oleh karena itu, dapat dikatakan senyawa antioksidan dalam sampel ekstrak kulit manggis diatas memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Tabel 4.3 menunjukkan aktivitas antioksidan berdasarkan EC_{50}

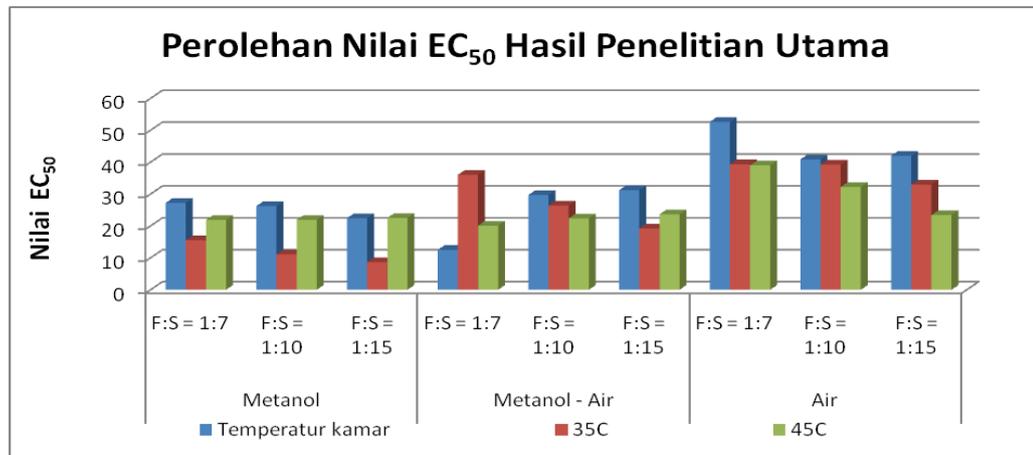
Tabel 4.3 Aktivitas antioksidan berdasarkan EC_{50}

Nilai EC_{50}	Aktivitas Antioksidan
< 50	sangat kuat
50 - 100	kuat
100 - 150	sedang
151-200	lemah

Hasil data penelitian utama dapat disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, seperti terlihat pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.6.

Tabel 4.4 Perolehan nilai EC_{50} secara keseluruhan

Temperatur	Pelarut								
	Metanol			Metanol-Air			Air		
	F:S = 1:7	F:S = 1:10	F:S = 1:15	F:S = 1:7	F:S = 1:10	F:S = 1:15	F:S = 1:7	F:S = 1:10	F:S = 1:15
Temperatur Kamar	27,246	26,234	22,450	12,519	29,714	31,228	52,628	40,890	42,026
35 C	15,508	11,082	8,667	36,034	26,377	19,218	39,368	39,279	32,949
45 C	21,860	21,889	22,528	20,066	22,356	23,624	39,020	32,214	23,415



Gambar 4.6. Perolehan nilai EC₅₀ hasil penelitian utama

Dari Gambar 4.6. terlihat bahwa pelarut metanol secara umum memberikan hasil aktivitas antioksidan yang tinggi karena nilai EC₅₀ yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan pelarut lainnya. Hal ini mungkin berkaitan dengan karakteristik senyawa antioksidan dalam kulit buah manggis yang lebih mudah larut dalam metanol dibandingkan dengan pelarut lainnya.

Jika dilihat dari variasi temperatur, sulit untuk mendeskripsikan kecenderungan dari keseluruhan hasil penelitian. Namun secara umum dapat diketahui bahwa ketika temperatur dinaikkan dari temperatur kamar ke 35⁰C maka terjadi penurunan nilai EC₅₀. Sedangkan ketika temperatur dinaikkan dari 35⁰C menjadi 45⁰C, tidak menunjukkan kecenderungan kenaikan ataupun penurunan nilai EC₅₀ secara signifikan. Pada temperatur sekitar 60⁰C - 70⁰C zat antioksidan mulai rusak atau bahkan terdegradasi. Dalam keseluruhan penelitian ini, sampel sudah mengalami beberapa kali perlakuan termal mulai dari proses pengeringan, ekstraksi, dan pemisahan dengan evaporator vakum. Dengan demikian, ada kemungkinan penurunan aktivitas antioksidan pada 45⁰C akibat degradasi parsial senyawa antioksidan. Pada penelitian ini, temperatur 35⁰C merupakan temperatur terbaik untuk proses ekstraksi kulit buah manggis, terutama menggunakan pelarut metanol murni.

Dengan peningkatan F:S terjadi kecenderungan penurunan nilai EC₅₀. Dari Gambar 4.6. nilai EC₅₀ yang terkecil atau aktivitas antioksidannya yang tertinggi

diperoleh pada variasi F:S = 1:15. Dengan meningkatnya F:S, jumlah pelarut terhadap umpan yang digunakan akan lebih banyak. Hal ini akan menyebabkan peningkatan *driving force* perpindahan *solute* ke pelarut akibat semakin tingginya perbedaan konsentrasi *solute* dalam padatan dan pelarut. Jumlah pelarut yang banyak mampu menarik *solute* dengan konsentrasi yang lebih besar pada saat kesetimbangan. Sebaliknya jumlah pelarut yang sedikit tidak akan mampu lagi melarutkan *solute* karena kesetimbangan konsentrasi *solute* di padatan dan pelarut telah tercapai pada konsentrasi *solute* yang lebih rendah.

4.3.2 Analisis Varian Rancangan Percobaan

Analisis varian rancangan percobaan tiga variabel bertujuan untuk melihat apakah ada pengaruh dari variabel – variabel dalam penelitian dengan nilai EC_{50} yang dihasilkan. Hasil dari analisis varian pada rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Analisis varian nilai EC_{50} .

TABEL ANOVA						
Variasi	Jumlah kuadrat	DOF	Kuadrat rata-rata	Fo	Fo tabel	Keterangan
Perlakuan A	484,983	2	242,492	9,578	3,35	berpengaruh
Perlakuan B	3219,249	2	1609,625	63,577	3,35	berpengaruh
Perlakuan C	164,967	2	82,483	3,258	3,35	tidak berpengaruh
Interaksi AB	761,226	4	190,307	7,517	2,73	ada interaksi
Interaksi AC	187,624	4	66,127	2,611	2,73	tidak ada interaksi
Interaksi BC	264,509	4	81,714	3,228	2,73	ada interaksi
Interaksi ABC	653,715	8	46,906	1,852	2,31	tidak ada interaksi
Kesalahan percobaan	683,581	27	25,318			
Total	6419,854	53				

Keterangan: A (Variasi Temperatur), B (Variasi Jenis Pelarut) dan C (Variasi F:S)

Dari Tabel 4.5, diketahui bahwa nilai F_o perhitungan untuk varian temperatur dan pelarut lebih tinggi dibandingkan $F_{o, \text{tabel } 5\%}$ sehingga variabel jenis pelarut dan temperatur memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan (nilai EC_{50}). Variasi F:S tidak memberikan pengaruh pada aktivitas antioksidan yang diperoleh. Selain itu juga diketahui ada interaksi antara penggunaan variasi

temperatur dan jenis pelarut serta interaksi antara variasi jenis pelarut dan variasi F:S.

Setelah dilakukan analisis varian, dilakukan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui pengaruh yang paling signifikan dari masing – masing variasi pada variabel tertentu. Hasil analisis LSD dapat dilihat pada tabel 4.6 sampai 4.9 dibawah ini.

Tabel 4.6 Hasil uji LSD variabel temperatur penelitian

LSD Temperatur					
Temperatur	Temperatur	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
T kamar	35 ⁰ C	12,545	>	10,385	Berbeda signifikan
T kamar	45 ⁰ C	12,878	>	10,385	Berbeda signifikan
35 ⁰ C	45 ⁰ C	0,333	<	10,385	Tidak berbeda signifikan

Tabel 4.7 Hasil uji LSD variabel jenis pelarut

LSD Pelarut					
Pelarut		$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
Metanol	Metanol - Air	9,701	<	10,385	Tidak berbeda signifikan
Metanol	Air	36,513	>	10,385	Berbeda signifikan
Metanol - Air	Air	26,812	>	10,385	Berbeda signifikan

Tabel 4.8 Hasil uji LSD interaksi temperatur – jenis Pelarut

LSD Temperatur - Pelarut					
Temperatur	ph	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
T kamar	Metanol	23,878	>	10,385	Berbeda signifikan
	Metanol - Air	14,178	>	10,385	Berbeda signifikan
	Air	12,634	>	10,385	Berbeda signifikan
350 C	Metanol	11,333	>	10,385	Berbeda signifikan
	Metanol - Air	1,633	<	10,385	Tidak berbeda signifikan
	Air	25,179	>	10,385	Berbeda signifikan
450 C	Metanol	11,001	>	10,385	Berbeda signifikan
	Metanol - Air	1,301	<	10,385	Tidak berbeda signifikan
	Air	25,512	>	10,385	Berbeda signifikan

Tabel 4.9 Hasil uji LSD interaksi jenis pelarut – F:S

LSD Pelarut - F:S					
Pelarut	F:S	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
Metanol	1:07	19,281	>	10,385	Berbeda signifikan
	1:10	16,122	>	10,385	Berbeda signifikan
	1:15	10,809	>	10,385	Berbeda signifikan
Metanol -Air	1:07	9,581	<	10,385	Tidak berbeda signifikan
	1:10	6,422	<	10,385	Tidak berbeda signifikan
	1:15	1,109	<	10,385	Tidak berbeda signifikan
Air	1:07	17,232	>	10,385	Berbeda signifikan
	1:10	20,390	>	10,385	Tidak berbeda signifikan
	1:15	25,703	>	10,385	Berbeda signifikan

Dari Tabel 4.6 mengenai variabel temperatur penelitian, terlihat bahwa ada perbedaan yang signifikan antara temperatur kamar dan 35⁰ C serta antara temperatur kamar dan 45⁰ C . Sedangkan antara temperatur 35⁰ C dan 45⁰ C tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil ini semakin menguatkan hipotesis bahwa semakin tinggi temperatur yang digunakan, nilai aktivitas antioksidan semakin baik namun setelah melewati temperatur 35⁰ C tidak ada perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan.

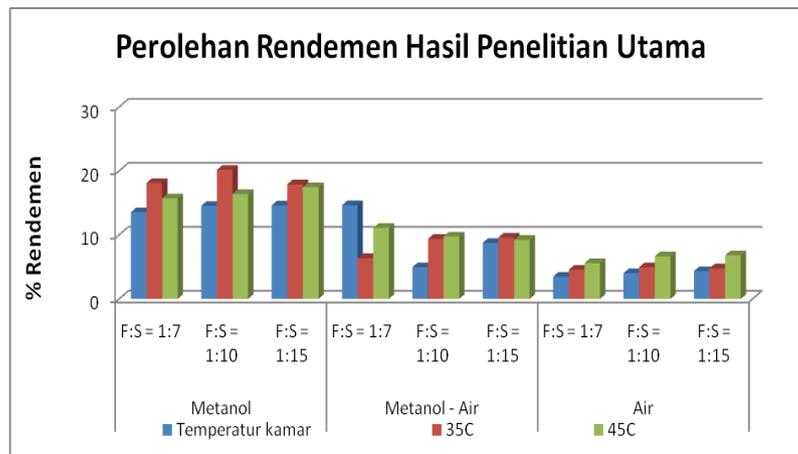
Dari Tabel 4.7 mengenai variabel jenis pelarut yang digunakan terlihat bahwa ada perbedaan yang signifikan antara pelarut air dan pelarut metanol-air, serta antara pelarut air dan metanol murni. Sedangkan antara jenis pelarut metanol dan metanol-air tidak ada perbedaan yang signifikan. Hasil ini semakin menguatkan hipotesis bahwa pelarut air merupakan pelarut yang paling buruk kinerjanya dalam penelitian kali ini. Sedangkan untuk pelarut metanol dan metanol-air tidak terlalu jauh perbedaan aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Sedangkan dari Tabel 4.8 dan 4.9 dapat diketahui pasangan variabel mana saja yang memberikan perbedaan yang signifikan atau tidak terhadap nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

4.3.3 Analisis Rendemen

Perhitungan rendemen dilakukan dengan membandingkan banyaknya ekstrak yang dihasilkan dengan banyaknya sampel bubuk kulit manggis yang digunakan di awal ekstraksi pada basis kering. Hasil percobaan dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan Gambar 4.6 berikut ini.

Tabel 4.10 Hasil perolehan rendemen penelitian utama

Temperatur	Pelarut								
	Metanol			Metanol-Air			Air		
	F:S = 1:7	F:S = 1:10	F:S = 1:15	F:S = 1:7	F:S = 1:10	F:S = 1:15	F:S = 1:7	F:S = 1:10	F:S = 1:15
T. Kamar	13,543	14,537	14,598	14,639	4,954	8,767	3,476	4,023	4,335
35 ⁰ C	18,124	20,169	17,91	6,376	9,384	9,608	4,562	4,959	4,779
45 ⁰ C	15,721	16,402	17,480	11,108	9,761	9,231	5,58	6,669	6,815



Gambar 4.7 Perolehan rendemen hasil penelitian utama

Gambar 4.7 menunjukkan karakteristik yang hampir mirip dengan perolehan nilai EC₅₀. Pelarut metanol memberikan nilai rendemen terbesar dibandingkan jenis pelarut lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut metanol mampu melarutkan lebih banyak senyawa antioksidan dibandingkan dengan pelarut lainnya karena secara tidak langsung hasil rendemen ini bersesuaian dengan hasil analisis EC₅₀. Sedangkan jika dilihat dari perbedaan temperatur, secara umum temperatur 35⁰C memberikan nilai % rendemen yang paling tinggi.

Walaupun untuk pelarut air, memiliki kecenderungan yang berbeda dimana justru pada temperatur 45⁰C memiliki % rendemen yang paling besar. Sedangkan untuk variasi F:S, terlihat bahwa F:S = 1:15 memberikan nilai % rendemen yang paling besar. Hal ini sudah sesuai dengan dugaan awal karena semakin banyak jumlah pelarut maka konsentrasi *solute* dalam larutan semakin kecil, sehingga *driving force* perpindahan *solute* dari padatan ke larutan akan meningkat.

4.3.3 Analisis Skrining Fitokimia

Hasil analisis skrining fitokimia dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.11. Dari hasil uji fitokimia, diketahui bahwa semua sampel (dengan pelarut metanol, metanol – air, dan air) menunjukkan reaksi positif yang cukup kuat untuk uji senyawa flavonoid, polifenol, dan saponin. Dapat dilihat bahwa meskipun ketiga pelarut yang digunakan menghasilkan reaksi yang **positif**, namun untuk pelarut air hasilnya tidak terlalu kuat bila dibandingkan dengan pelarut metanol ataupun pelarut metanol – air. Melalui uji skrining fitokimia ini, senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak kulit manggis kemungkinan besar tergolong dalam senyawa polifenol dan flavonoid.

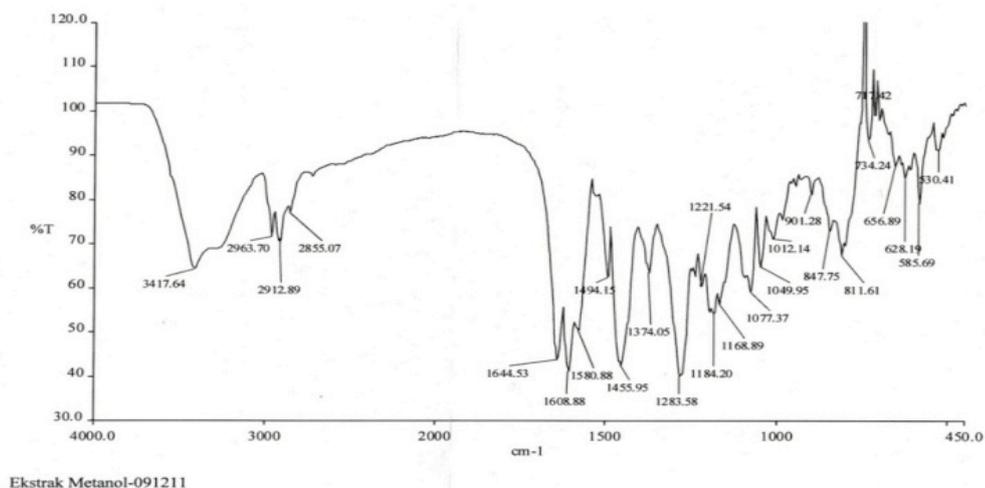
Tabel 4.11. Hasil analisis fitokimia

Golongan Senyawa	Metanol	Metanol - Air	Air
Alkaloid	+	-	-
Flavonoid	+++	+++	+
Polifenol	++	+	+
Tanin	+	+	-
Monoterpenoid / Sesquiterpenoid	++	+	+
Steroid	-	-	-
Triterpenoid	+	+	-
Kuinon	++	+	+
Saponin	+++	++	+

Keterangan	
-	Reaksi Negatif
+	Reaksi Positif
++	Reaksi Positif Kuat
+++	Reaksi Positif Sangat Kuat

4.3.4 Analisis FTIR

Metode FTIR adalah salah satu metode uji untuk menentukan gugus-gugus fungsional suatu materi berdasarkan intensitas cahaya inframerah yang diserap oleh bahan tsb. Dari hasil percobaan, diperoleh grafik analisis seperti Gambar 4.8 ini.



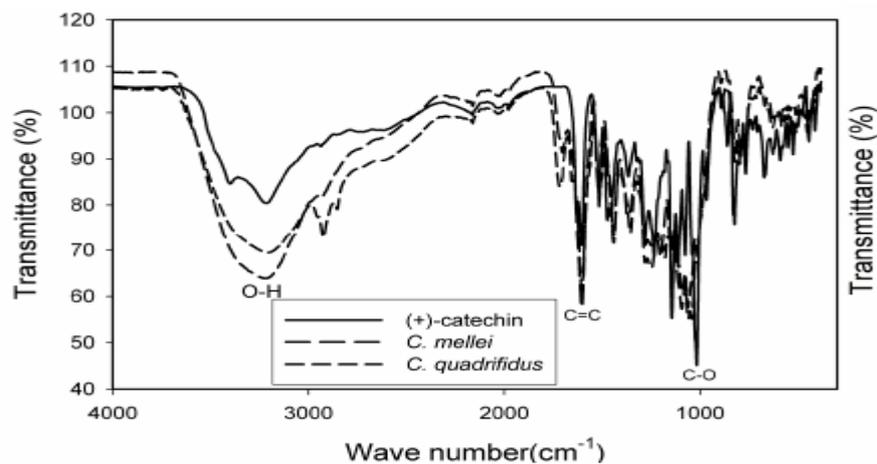
Gambar 4.8 Kurva analisis FTIR

Dari kurva FTIR, dapat diketahui beberapa gugus senyawa yang terdapat dalam kulit buah manggis antara lain gugus C=C, O-H, C-O dan cincin aromatik seperti yang terlihat pada Tabel 4.12. di bawah ini.

Tabel 4.12. Hasil Metode FTIR

Gugus	Jenis Senyawa	Frekuensi Literatur (cm ⁻¹)	Hasil Uji
C-H	Alkana	2850-2960 ; 1350 - 1470	-----
C-H	Alkena	3020 - 3080 ; 675 - 870	847,75
C-H	Aromatik	3000 - 3100 ; 675 - 870	-----
C-H	Alkana	3300	-----
C=C	Alkena	1620 - 1680	1608,88 ; 1644,53
C=C	Cincin Aromatik	1500 - 1600	1580,88
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1080 - 1300	1168,9 ; 1184,2 ; 1283,58
C=O	Aldehida, keton, asam karboksilat, ester	1690 - 1760	-----
O-H	Alkohol, fenol (monomer)	3610 - 3640	3417,64
O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	2000 - 3600	2855,7 ; 2912,89 ; 2963,7
RC=O-X	Asil halida	1770 - 1815	-----
C-X	Haloalkana	500 - 750	628,19 ; 656,89 ; 717,42

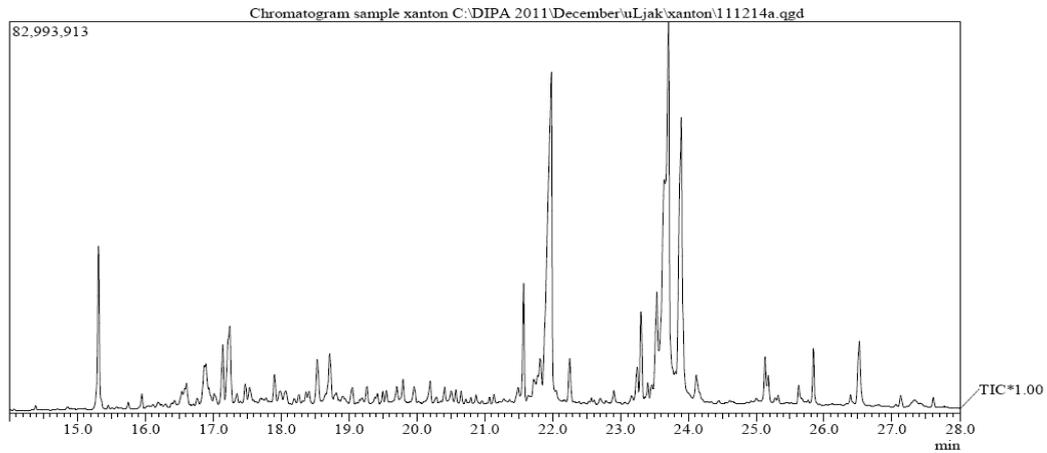
Dari tabel diatas, diketahui ada beberapa senyawa yang terdapat di sampel ekstrak kulit buah manggis. Seperti yang sudah diketahui sebelumnya, beberapa senyawa antioksidan masuk ke dalam golongan fenol/ polifenolik atau senyawa flavonoid. Keunikan dari senyawa fenol/ polifenol dan flavonoid ini adalah memiliki gugus O-H dan beberapa cincin aromatik yang ditandai oleh gugus C=C. Hasil FTIR ini bersesuaian dengan hasil skrining fitokimia yang mengindikasikan keberadaan senyawa polifenol dan flavonoid. Lebih lanjut lagi, spektra FTIR untuk senyawa catechin seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4.9 cukup memiliki banyak kemiripan dengan spektra FTIR ekstrak kulit manggis (Gambar 4.8). Hal ini mengindikasikan kemungkinan besar keberadaan catechin yang juga biasanya banyak terdapat di dalam kulit manggis. Untuk mengkonfirmasi hal ini, perlu dilakukan uji lainnya seperti GC-MS.



Gambar 4.9 Kurva Analisis FTIR Senyawa *Catechin*^[21]

4.3.4 Analisis GC-MS

Metode GC-MS adalah sebuah metode uji yang menggabungkan metode kromatografi gas dan spektrofotometri massa sehingga dapat memisahkan dan mengidentifikasi satu demi satu komponen-komponen yang ada dalam sampel. Kurva analisis GC-MS dapat dilihat pada Gambar 4.10.

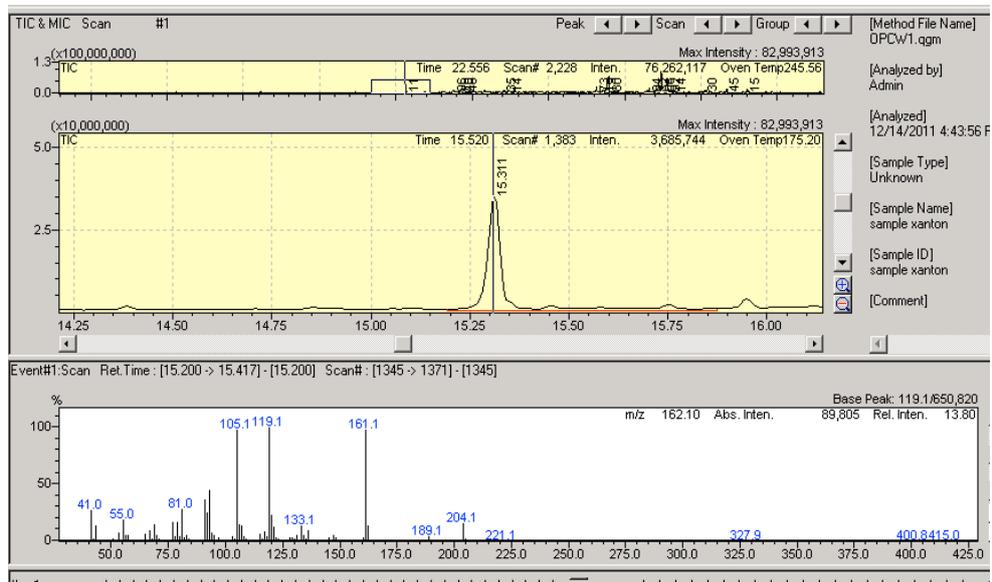


Gambar 4.10 Kurva analisis metode GC-MS

Dari hasil uji GC-MS ini dapat diketahui bahwa ada ratusan komponen senyawa organik yang ada di sampel ekstrak kulit manggis. Beberapa senyawa yang memiliki puncak – puncak yang tinggi dari gambar 4.10 yang dapat dideteksi berdasarkan waktu retensinya, antara lain:

1. Senyawa α – *copaene*

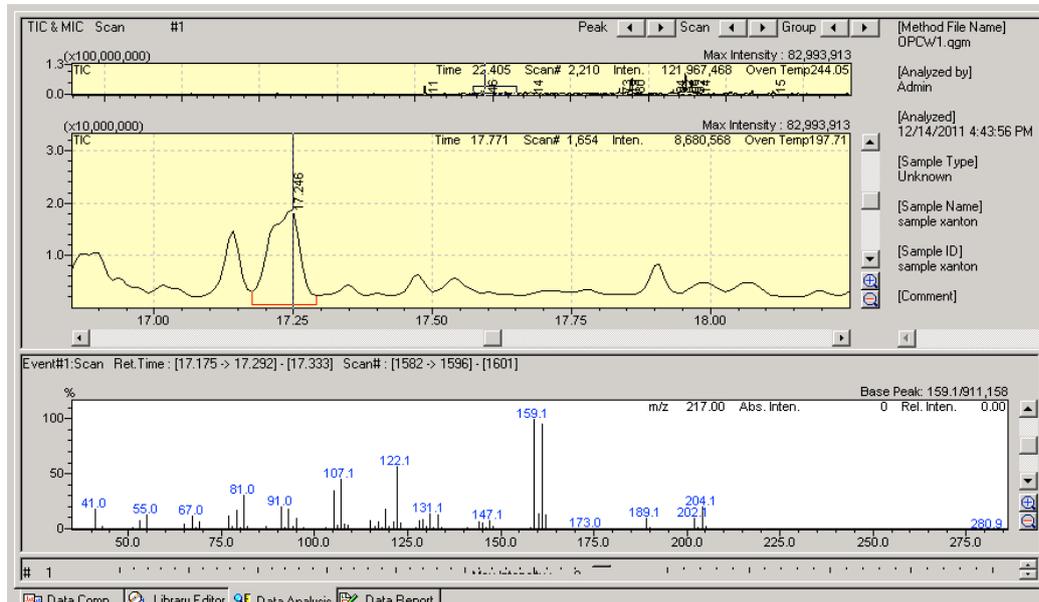
Berikut spektrum massa yang dipancarkan dari senyawa ini :



Gambar 4.11 Spektrum massa senyawa α – *copaene*

2. Senyawa *Isoledene*

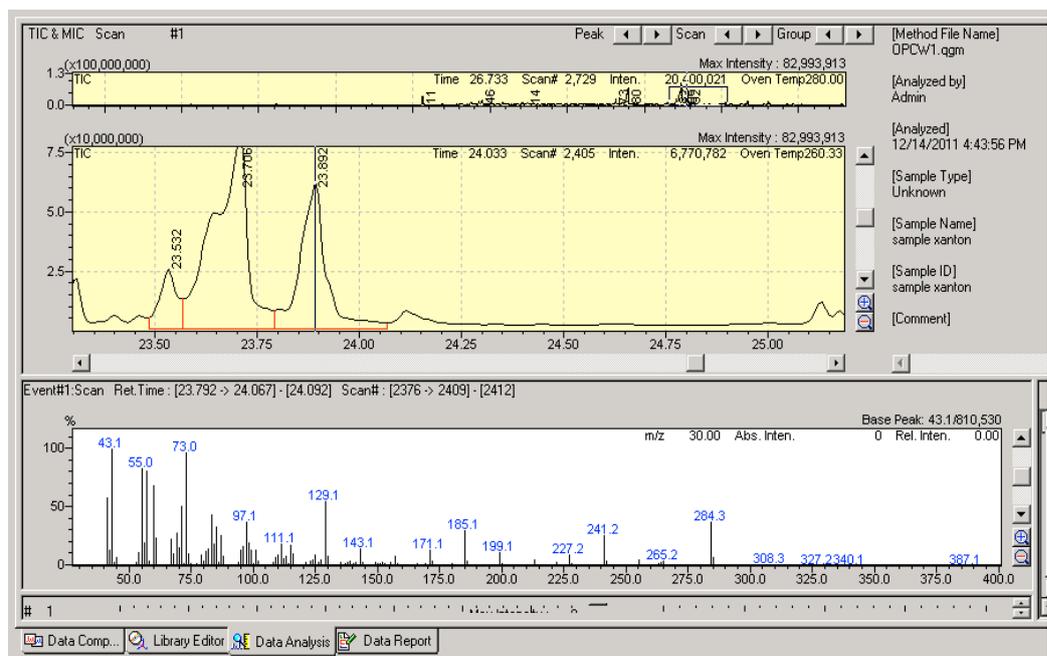
Berikut spektrum massa yang dipancarkan dari senyawa ini :



Gambar 4.12 Spektrum Massa Senyawa *Isoledene*

3. Senyawa *(2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol / Catechin*

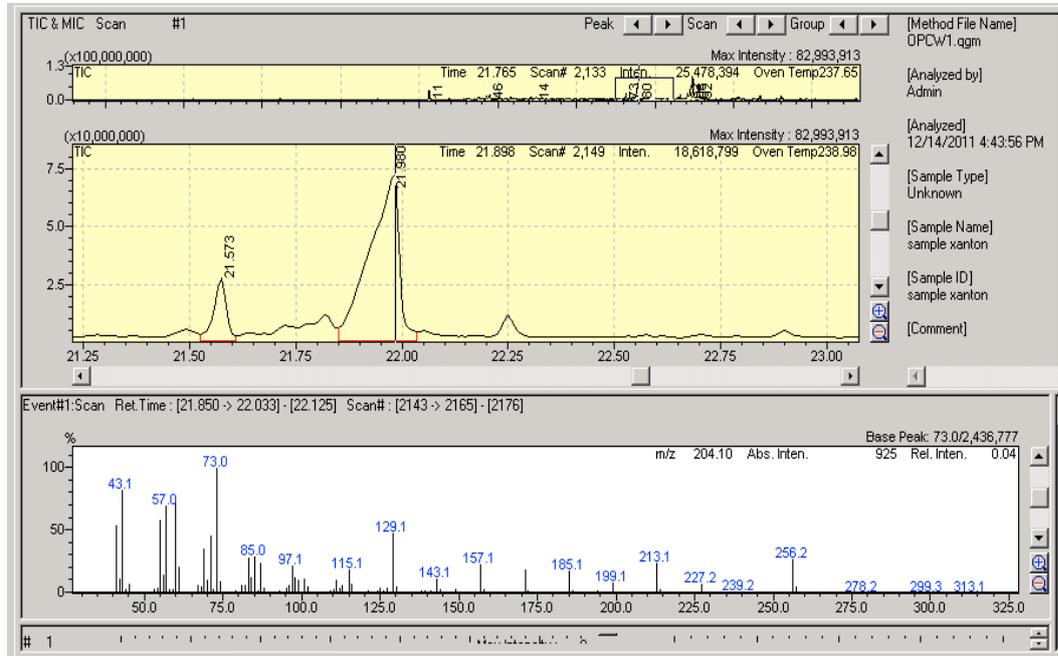
Berikut spektrum massa yang dipancarkan dari senyawa ini :



Gambar 4.13 Spektrum massa senyawa *Catechin*

4. Senyawa *Hexadecanoic Acid*

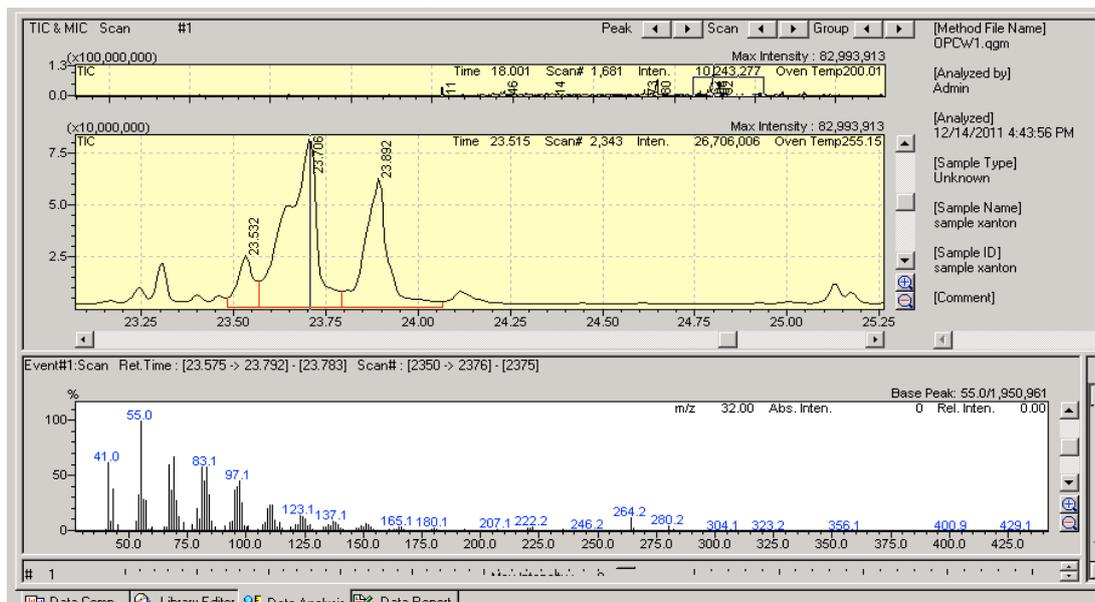
Berikut spektrum massa yang dipancarkan senyawa ini:



Gambar 4.14 Spektrum massa senyawa *Hexadecanoic Acid*

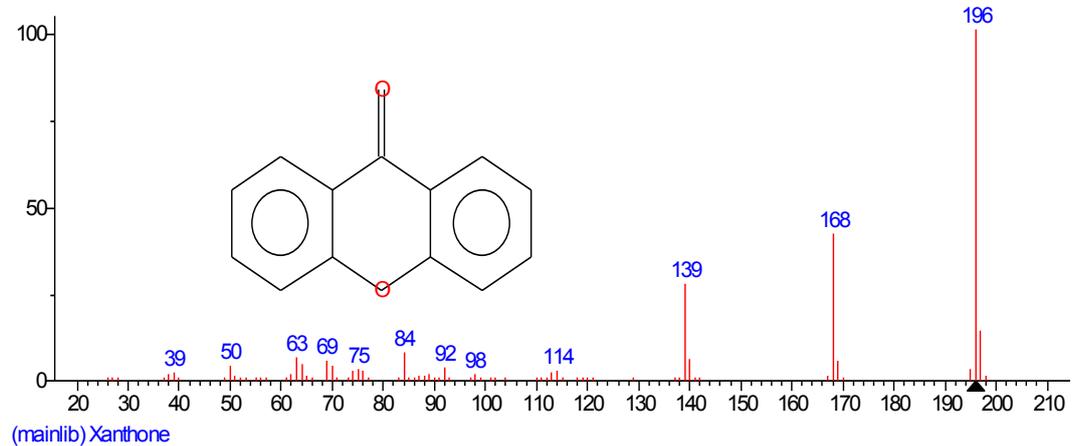
5. Senyawa *Oleic Acid*

Berikut spektrum massa yang dipancarkan senyawa ini :



Gambar 4.15 Spektrum massa senyawa *Oleic Acid*.

Senyawa *Xanthone* yang merupakan senyawa antioksidan kulit buah manggis tidak terdeteksi melalui uji GC-MS ini karena spektra GC yang dihasilkan tidak bersesuaian dengan spektrum senyawa *Xanthone* (Gambar 4.16).



Gambar 4.16 Spektrum massa senyawa Xanthone

Dari hasil uji GC-MS ini, secara garis besar diperoleh 5 senyawa terbesar yang terkandung dalam sampel kulit manggis, sebagai berikut:

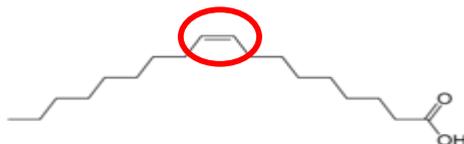
Tabel 4.13 Hasil metode GC MS

Puncak ke -	Waktu Retensi	Waktu Awal (I Time)	Waktu Akhir (F Time)	Area	% Area	Senyawa
17	15,311	15,192	15,875	90919731	3,02	<i>α-copaene</i>
30	17,246	17,175	17,292	70976373	2,36	<i>Isodene</i>
79	21,98	21,85	22,033	343554831	11,41	<i>Hexadecanoic acid</i>
97	23,707	23,567	23,792	461881004	15,34	<i>Oleic acid</i>
98	23,892	23,792	24,067	265240882	8,81	<i>Catechin</i>

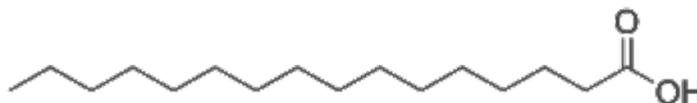
Dari hasil ini, tidak bisa ditentukan secara pasti berapa konsentrasi senyawa – senyawa tersebut. Tapi dari hasil kurva dapat dihitung luas area masing – masing puncak. Perbandingan antara luas area masing – masing puncak dengan total area grafik secara keseluruhan menghasilkan data % area seperti terlihat pada tabel 4.13. Persentase area ini menunjukkan berapa banyak kandungan senyawa tersebut dalam sampel yang diuji.

Diatas, terlihat bahwa senyawa *Oleic acid* atau asam oleat menjadi senyawa terbanyak dengan 15,34% dari total keseluruhan senyawa yang

terkandung dalam sampel. Sedangkan di posisi kedua diduduki oleh *Hexadecanoic acid* atau sering dikenal sebagai asam palmitat. Asam oleat merupakan asam lemak tak jenuh, sedangkan asam palmitat termasuk dalam golongan asam lemak jenuh. Asam lemak jenuh hanya memiliki ikatan tunggal diantara atom karbon penyusunnya. Sedangkan asam lemak tak jenuh memiliki paling sedikit satu ikatan ganda di antara atom – atom karbon penyusunnya.



Gambar 4.17 Struktur senyawa Asam Oleat



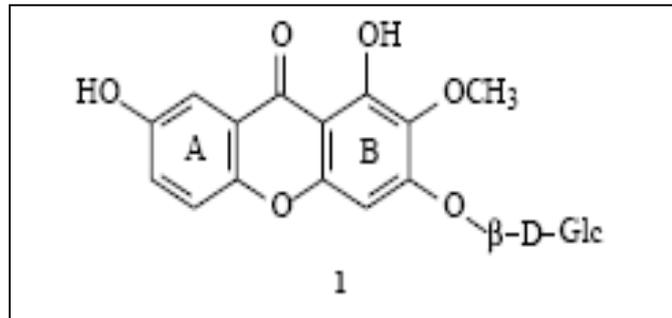
Gambar 4.18 Struktur senyawa Asam Palmitat

Asam oleat sering dikenal sebagai asam lemak omega 9, merupakan asam lemak terbanyak yang dapat ditemukan di alam. Omega 9 dikenal dapat meningkatkan kadar ”kolesterol baik” atau HDL (*High Density Lipoprotein*) dan sebaliknya menurunkan tingkat ”kolesterol jahat” atau LDL (*Low Density Lipoprotein*). Selain itu, sebenarnya asam oleat juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan, namun bukan termasuk antioksidan yang terbaik.

Dari hasil di atas, juga dapat diketahui ternyata ada sebuah senyawa antioksidan yang terdeteksi oleh analisis GC-MS dengan kadar 8,81% dari sampel yang diuji. Senyawa tersebut adalah *(2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol* atau lebih dikenal sebagai *Catechin*. Senyawa *Catechin* memiliki gugus C = C yang menunjukkan keberadaan senyawa aromatik, O – H dan C – O (lihat Gambar 2.5) yang bersesuaian dengan hasil yang diperoleh dari uji FTIR.

Senyawa *Xanthone* yang merupakan senyawa antioksidan utama yang terdapat dalam buah manggis tidak teridentifikasi melalui uji GC-MS. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh keberadaan senyawa *Xanthone* yang masih terdapat sebagai kompleks glikosida (Gambar 4.19). Oleh sebab itu, pada

percobaan mendatang, perlu dikaji perlakuan tambahan terhadap ekstrak kulit manggis berupa hidrolisis asam yang dapat memisahkan glikosida *Xanthone* menjadi glikon dan aglikonnya untuk memeriksa keberadaan senyawa *Xanthone* sebelum dilakukan proses isolasi tahap lanjut.



Gambar 4.19 Struktur *Xanthone-O-Glycoside*

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Dari hasil analisis varian, diketahui bahwa faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (nilai EC_{50}) adalah jenis pelarut dan temperatur.
2. Dari hasil analisis varian, diketahui ada interaksi antara jenis pelarut dengan temperatur ekstraksi dan jenis pelarut dengan F:S terhadap aktivitas antioksidan.
3. Kondisi operasi yang terbaik dalam penelitian ini adalah ekstraksi yang menghasilkan aktivitas antioksidan yang tertinggi yaitu menggunakan jenis pelarut metanol, temperatur ekstraksi $35^{\circ}C$ dan F:S = 1:15 dimana nilai EC_{50} sebesar 8,667 (termasuk antioksidan kuat) dan perolehan rendemen sebesar 17,91%.
4. Dari hasil uji fitokimia diketahui bahwa ekstrak kulit buah manggis bereaksi sangat positif terhadap uji flavonoid, polifenol, dan saponin.
5. Dari hasil uji FTIR diketahui bahwa di dalam ekstrak kulit buah manggis mengandung gugus C=C, O-H, C-O dan cincin aromatik.
6. Dari hasil uji GC-MS diketahui beberapa senyawa yang terkandung dalam ekstrak kulit buah manggis antara lain *hexadecanoic acid*, *oleic acid* dan *catechin*.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut ekstrak kulit buah manggis dari pelarut metanol mengingat metanol adalah senyawa yang beracun. Selain itu juga perlu dilakukan analisis toksisitas untuk mengetahui apakah zat hasil ekstraksi dapat dikonsumsi atau tidak.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perbandingan metanol – air yang tepat digunakan dalam proses ekstraksi antioksidan kulit buah manggis.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa *xanthone* yang diinginkan melalui proses perlakuan awal hidrolisis untuk memecah ikatan kompleks glikosidanya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jung, HA., Su, Bao Ning., Keller, William J. , Mehta, RG., Kinghorn, AD. 2006. Antioxidant Xanthones from the Pericarp of *Garcinia mangostana* (mangosteen). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54
2. Qosim, Warid Ali. 2007. Kulit Buah Manggis sebagai Antioksidan. <http://anekaplanta.wordpress.com/2007/12/26/kulit-buah-manggis-sebagaiantioksidan/>.
3. Iswari K dan Sudaryono T. 2007. Empat Jenis Olahan Manggis, Si Ratu Buah Dunia dari Sumbar. Di dalam Tabloid Sinar Tani. BPTP Sumbar.
4. DeMan, John M. 1997. Kimia Makanan. Edisi Kedua. Penerjemah : Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB
5. Ketaren, S. 1986. Teknologi Pengolahan Minyak dan Lemak Pangan. UI-Press : Jakarta
6. Shahidi, F. 1997. Natural Antioxidans (Chemistry, Health Effects, and Applications). AOAC Press : Champaign, Illinois.
7. Burda , S., and Oleszek, W. 2001. *J. Agric. Food. Chem.* 49:2774-2779.
8. Richa, Y. 2009. Uji aktivitas penangkap radikal dari ekstrak petroleumeter, etil asetat dan etanol rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
9. Anonim a. 2009. Ekstraksi. <http://www.blogpribadi.com/2009/07/jenis-jenisekstraksi>.
10. Anonim b. 2009. Ekstraksi antosianin. http://www.google.co.id/url?url=http://simonbidjanarko.files.wordpress.com/2008/06/ekstraksi-antosianin-2.doc&rct=j&ei=OCXISv-_B4mPkQWvouieAQ&sa=X&oi=spellmeleon_result&resnum=1&ct=result&ved=0CAcQhgIwAA&q=antosianidin&usg=AFQjCNH1HsxH8uMxL

orAXi-z3a-QQwEmPg

11. Prihatman, K., 2000. Manggis (*Garcinia mangostana* L). Available at <http://www.ristek.go.id>
12. The Magnificently Tropical "Queen of Fruits" : *Garcinia mangostana*, The Mangosteen. 2002 ; Available from : www.thewisegardener.com/index.php?page=articles&aid=24
13. Garrity, A. R.; Morton, J. C.; Morrison, P.; De La Huerga, V. Nutraceutical mangosteen tea. PCT Int. Appl. WO 2005048940, A2 20050602, 2005; 9 pp.
14. Heyne, K., 1987, Tumbuhan Berguna Indonesia III, Penerjemah : Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Yayasan Sarana Wahajaya, Jakarta, pp 1385 –1386
15. Indigomorie. 2009. Antioksidan: Apa yang Kita Perlu Ketahui Tentangnya. <http://netsains.com/2009/06/antioksidan-apa-yang-kitaperlu-ketahuitentangnya/>
16. Belleville-Nabet, F. 1996. Zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan dalam Sistem Biologis dalam Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan: reaksi Biomolekuler, Dampak Terhadap Kesehatan dan Penangkalan. CFNS-IPB dan Kedutaan Besar Perancis-Jakarta.
17. Mokgope, L. B. 2006. Cowpea Seed Coats and Their Extracts : Phenolic Composition and Use as Antioxidants in Sunflower Oil. Department of Food Science. University of Pretoria. South Africa. June 2006, pg. 5 – 13.
18. Harborne JB. 1996. Metode Fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung : ITB Press. Terjemahan dari: Phytochemical Methods
19. Houghton, Peter J. and A. Rahman. 1998. Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Chapman and Hall : London.
20. Efri ; Achyar, Cucu ; Marta, Herlina. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Tasikmalaya. 2008. Lembaga Penelitian Universitas Padjadjaran

21. Moongkarndi, P. , Kosem, N., Kaslungka, S., Luanratana,O. 2002. Antiproliferation , antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. *Journal of Ethnopharmacology* 90 (2004) 161-166.
22. Pradipta, Ivan S., Nikodemus, Titi W., Susilawati, Yasmiwar. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Xanton dari Kulit Buah Manggis. Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

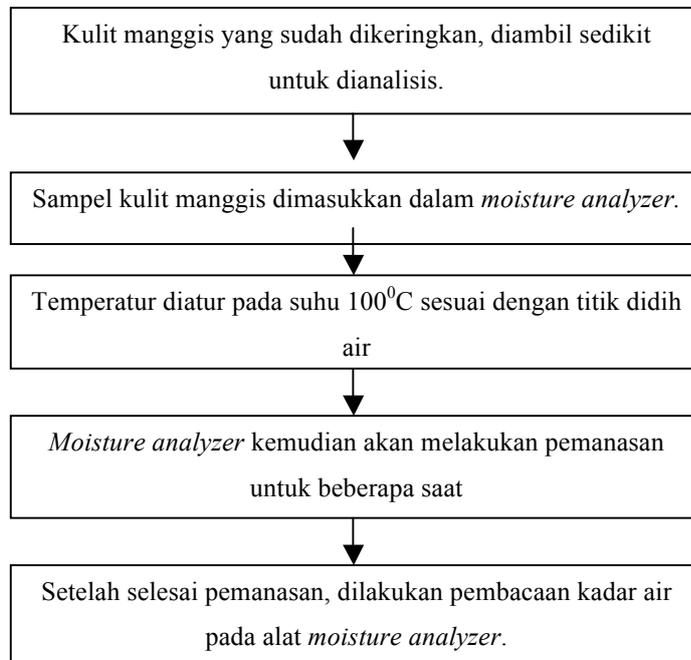
LAMPIRAN A

PROSEDUR ANALISIS

A.1 Analisa Kadar Air

Kulit manggis yang dikeringkan menggunakan oven dianalisis kadar air yang terkandung di dalamnya. Analisis kadar air ini didasarkan pada prinsip gravimetri, dimana metode gravimetri ini didasarkan atas perbandingan massa bahan setelah dipanaskan dan massa bahan sebelum dipanaskan. Pada saat pemanasan berlangsung, air yang masih tertinggal dalam bahan akan menguap.

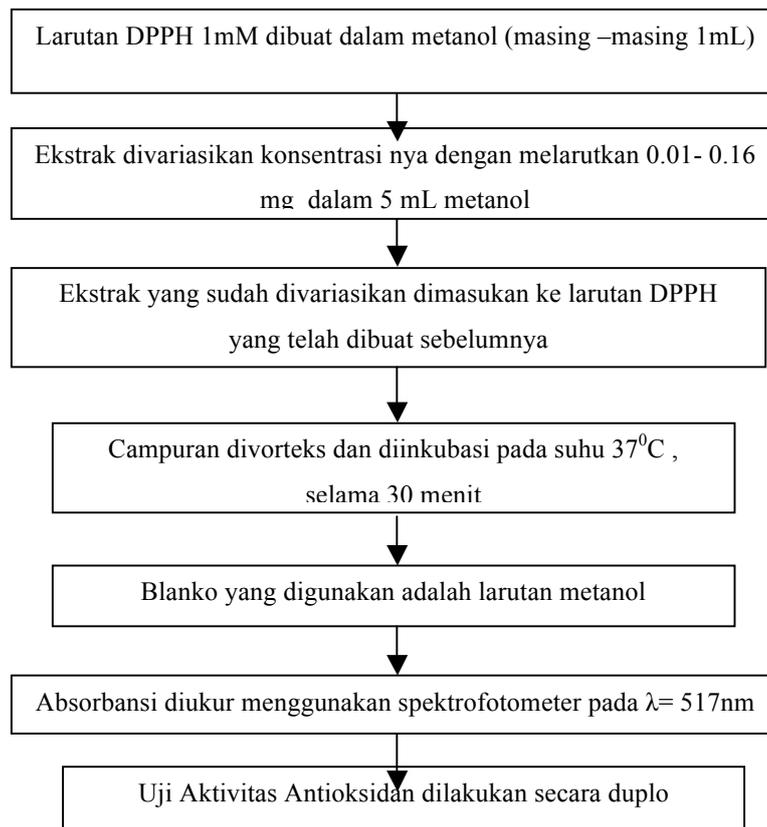
Salah satu alat yang digunakan adalah *moisture analyzer*. Secara harafiah, alat ini memang menunjukkan bahwa akan menganalisis kandungan lembab yang terkandung dalam zat uji yang kemudian akan menguap akibat panas yang diberikan. Kandungan lembab dalam percobaan kali ini adalah air. Gambar A.1 dibawah akan menunjukkan prosedur kerja analisis kadar air.



Gambar A.1 Diagram Alir Analisis Kadar Air

A.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Setelah proses ekstraksi masing – masing variasi selesai dilakukan, kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Gambar A.2 akan menunjukkan cara kerjanya.



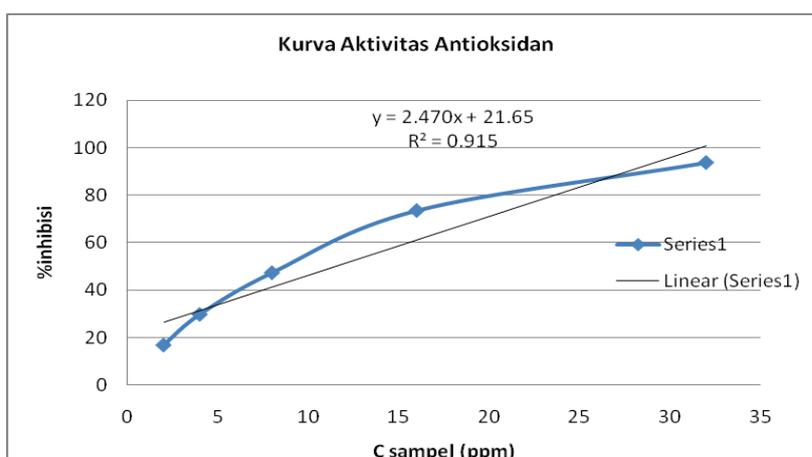
Gambar A.2 Uji Aktivitas Antioksidan

Setelah semua variasi konsentrasi diukur absorbansinya kemudian dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman DPPH dan ditentukan harga EC_{50} , yaitu konsentrasi larutan yang mampu memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Contoh kurva aktivitas antioksidan dapat dilihat pada gambar A.3

Tabel A.1 dibawah ini akan menunjukkan contoh nilai % inhibisi masing – masing konsentrasi sampel.

Tabel A.1 Contoh Nilai % inhibisi masing – masing konsentrasi sampel

C sampel (ppm)	% inhibisi
2	16.86
4	29.77
8	47.36
16	73.61
32	93.84



Gambar A.3 Kurva Aktivitas Antioksidan

Dari kurva di atas, dapat diperoleh persamaan garis yaitu $y = 2,47 x + 21,65$. Nilai EC_{50} diperoleh dengan bantuan persamaan garis tersebut dengan memasukkan nilai y sebesar 50 sehingga didapatkan x sebesar 11,47 ppm atau 11,47 mg/L . Dengan demikian, dengan konsentrasi ekstrak sebesar 11,47 mg/L dapat menghambat proses oksidasi sebesar 50%.

A.3 Rendemen Antioksidan

Perhitungan rendemen dapat dilakukan setelah proses ekstraksi. Rendemen adalah berat ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi dibandingkan dengan berat sampel awal. Rumus yang dalam perhitungan rendemen antioksidan :

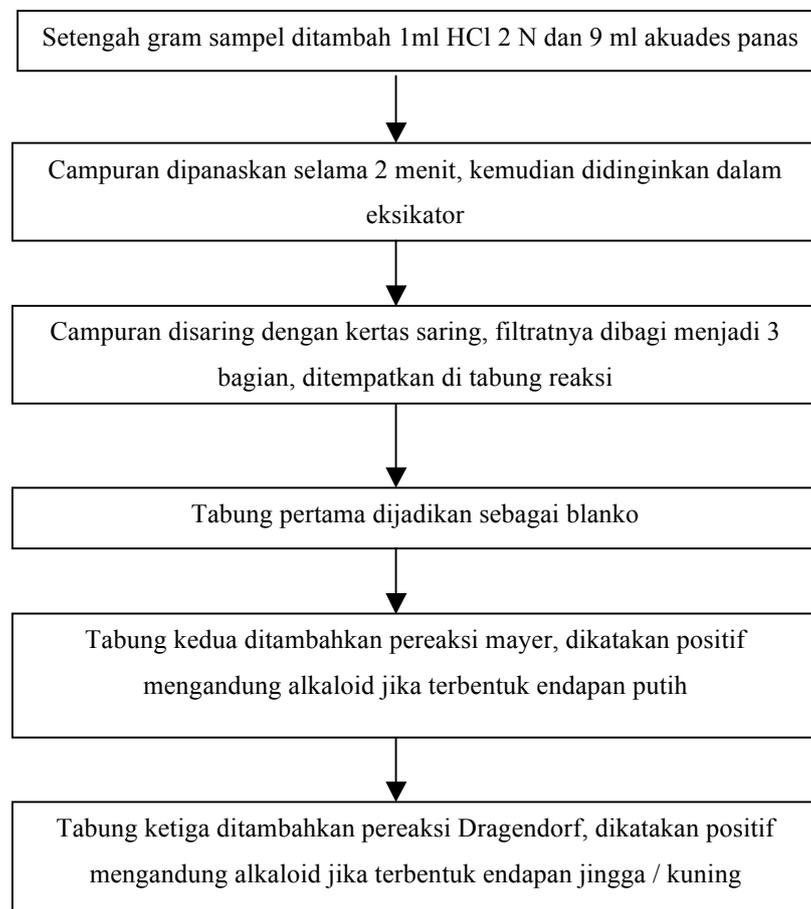
$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (gr)}}{\text{berat sampel (gr)}} \times 100\%$$

A.4 Uji Fitokimia

A.4.1 Uji Alkaloid

Pada uji kualitatif untuk menentukan ada atau tidaknya senyawa alkaloid digunakan reagen tertentu untuk mengendapkan senyawa alkaloid yaitu reagen Mayer ($K_2[HgI_2]$) dan Dragendorf ($K[BiI_4]$). Dalam uji ini ditambahkan HCl untuk membuat suasana menjadi asam karena golongan alkaloid bersifat basa, kemudin juga ditambahkan akuades panas untuk mendekstruksi protein yang mengganggu proses pengujian.

Gambar A.4 dibawah ini akan menunjukkan prosedur kerja nya.

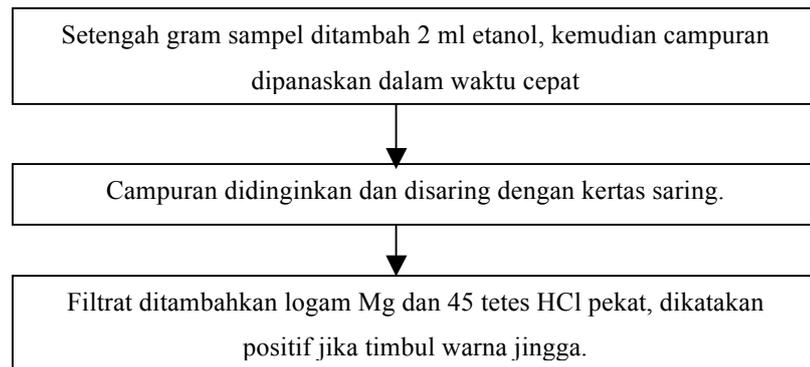


Gambar A.4 Prosedur Uji Alkaloid

A.4.2 Uji Flavonoid

Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan metode Wilstater, dikatakan positif mengandung flavonoid jika timbul warna jingga. Warna ini muncul akibat reduksi flavonoid oleh Mg dan HCl pekat.

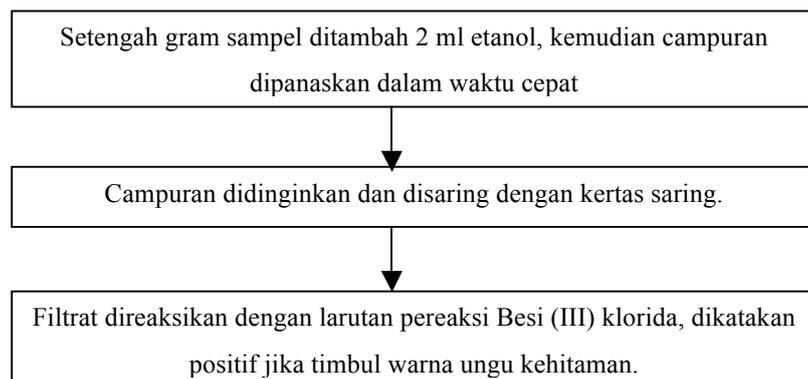
Gambar A.5 dibawah akan menunjukkan prosedur kerja uji flavonoid



Gambar A.5 Prosedur Uji Flavonoid

A.4.3 Uji Polifenolat

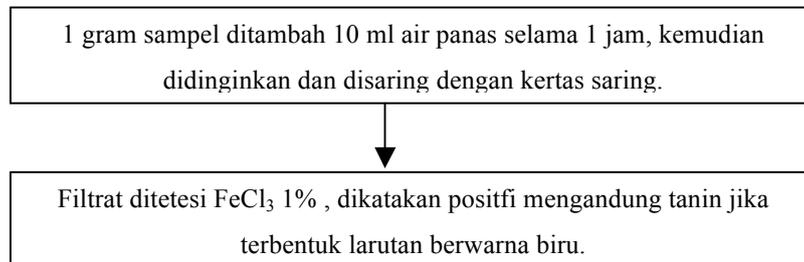
Gambar A.6 dibawah ini akan menunjukkan prosedur uji polifenolat.



Gambar A.6 Prosedur Uji Polifenolat.

A.4.4 Uji Tanin

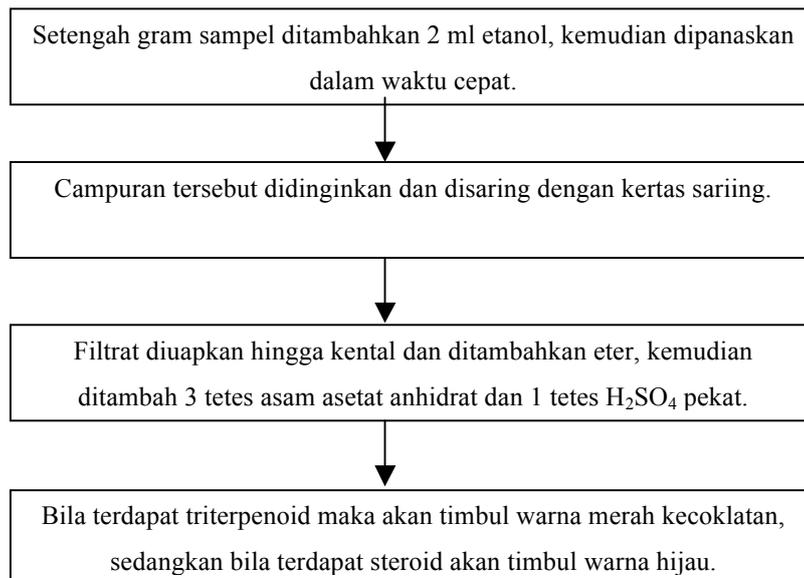
Gambar A.7 dibawah ini akan menunjukkan prosedur kerja uji tanin.



Gambar A.7 Prosedur Uji Tanin.

A.4.5 Uji Steroid dan Triterpenoid.

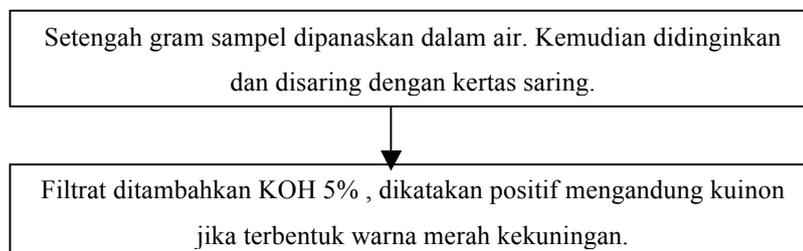
Steroid merupakan senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang memiliki struktur dasar sterana jenuh dengan 17 atom karbon dan 4 cincin. Sedangkan triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene. Uji yang digunakan adalah dengan menggunakan reagen Lieberman-Buchard (anhidrida asetat – H_2SO_4 pekat) .Gambar A.8 dibawah ini akan menunjukkan prosedur kerja uji ini.



Gambar A.8 Prosedur Uji Steroid dan Triterpenoid

A.4.6 Uji Kuinon

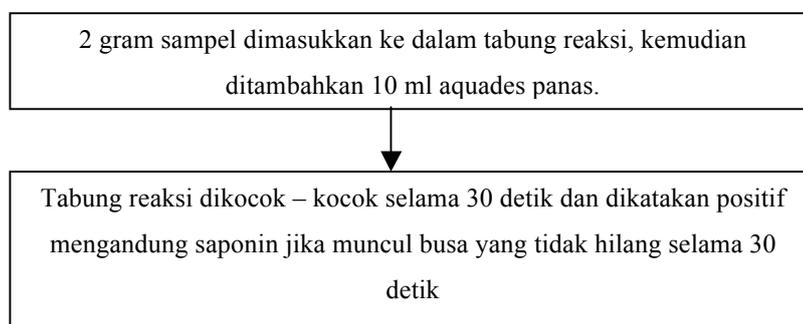
Gambar A.9 akan menunjukkan prosedur kerja uji kuinon.



Gambar A.9 Prosedur Uji Kuinon

A.4.7 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan metode Forth yaitu dengan menghidrolisis saponin dalam air. Saponin merupakan senyawa yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Prosedur kerjanya dapat dilihat pada gambar A.10.



Gambar A.10 Prosedur Uji Saponin.

A.5 Metode FTIR (Fourier Transform Infra Red)

Metode uji FTIR adalah uji yang dilakukan untuk mengidentifikasi suatu materi berdasarkan cahaya yang diserap atau dipancarkan dengan menggunakan bantuan sinar inframerah yang dilengkapi dengan teknik transformasi Fourier untuk mendeteksi dan menganalisis hasil spektrumnya. Peristiwa absorpsi sinar infra merah terjadi bila terjadi kesesuaian antara frekuensi radiasi infra merah dengan frekuensi vibrasional molekul sampel dan perubahan momen dipol selama terjadi

proses vibrasi. Metode FTIR merupakan salah satu teknik yang sangat baik untuk mengidentifikasi struktur molekul suatu senyawa. Tabel dibawah ini akan menunjukkan senyawa – senyawa yang bisa terdeteksi berdasarkan frekuensi yang dipancarkannya.

Tabel A.2 Senyawa dan Frekuensi yang dipancarkan

Gugus	Jenis Senyawa	Frekuensi Literatur (cm ⁻¹)
C-H	Alkana	2850-2960 ; 1350 - 1470
C-H	Alkena	3020 - 3080 ; 675 - 870
C-H	Aromatik	3000 - 3100 ; 675 - 870
C-H	Alkuna	3300
C=C	Alkena	1620 - 1680
C=C	Cincin Aromatik	1500 - 1600
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1080 - 1300
C=O	Aldehida, keton, asam karboksilat, ester	1690 - 1760
O-H	Alkohol, fenol (monomer)	3610 - 3640
O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	2000 - 3600
RC=O-X	Asil halida	1770 - 1815
C-X	Haloalkana	500 - 750

A.6 Metode GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*)

Metode GC-MS merupakan gabungan dari metode kromatografi gas dan spektrofotometri massa untuk memisahkan dan mengenali komponen – komponen campuran. Komponen – komponen tersebut dipisahkan dari sampel awal terlebih dahulu secara kromatografi gas dengan fasa gerak yang berupa gas pembawa dan fasa diam yang menahan cuplikan sampel. Setelah itu dengan metode spektrometri massa dapat dipisah-pisahkan lagi berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan elektron nya.

Kelebihan metode ini adalah waktu identifikasi yang cepat, sensitivitas tinggi, dan pemisahan nya cukup baik. Senyawa yang dapat terdeteksi dengan alat GC-MS adalah senyawa yang mudah menguap, massa molekul nya tidak terlalu besar dan tahan pada kondisi vakum tinggi.

LAMPIRAN B

CONTOH PERHITUNGAN

B.1 Penentuan Persen Inhibisi

$$\begin{aligned}\text{Absorban sampel} &= 0,646 \text{ A} \\ \text{Absorban reference} &= 1,234 \text{ A} \\ \text{\% inhibisi} &= \frac{(\text{absorban reference} - \text{absorban sampel})}{\text{absorban}} \times 100\% \\ &= \frac{(1,234 - 0,646)}{1,234} \times 100 \% \\ &= 47,645\%\end{aligned}$$

B.2 Penentuan Nilai EC₅₀ sampel.

Dari kurva standar didapatkan persamaan : $y = 1,861 x + 26,74$

Dengan memasukkan nilai variabel y sebesar 50 , dapat diperoleh

$$\text{EC}_{50} \rightarrow x = \frac{(50 - 26,74)}{1,861} = 12,499.$$

B.3 Perhitungan Rendemen (berat kering)

$$\begin{aligned}\text{Massa umpan} &= 100 \text{ gram} \\ \text{Kadar air umpan} &= 10\% \\ \text{Massa umpan basis kering} &= 90 \text{ gram} \\ \text{Massa ekstrak} &= 3,68 \text{ gram} \\ \text{Kadar air ekstrak} &= 15\% \\ \text{Massa ekstrak basis kering} &= 3,128 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen} &= (\text{massa ekstrak kering} / \text{massa umpan kering}) \times 100\% \\ &= \frac{3,128 \text{ gram}}{90 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 3,47\%.\end{aligned}$$

B.4 Rancangan Percobaan 3 faktorial

Temperatur (i)	Metanol (j)			Metanol - Air			Air		
	1 : 7 (k)	1 : 10	1 : 15	1 : 7	1 : 10	1 : 15	1 : 7	1 : 10	1 : 15
kamar	54,492	52,467	44,902	25,038	59,429	62,456	105,256	81,781	84,053
35 ⁰ C	31,016	22,165	17,338	72,068	52,753	38,435	78,736	78,559	65,899
45 ⁰ C	43,72	43,778	45,09	40,131	44,711	47,248	78,04	64,427	46,83

Total nilai Temperatur

- Temperatur kamar = $54,492 + 52,467 + 44,902 + \dots + 84,053 = 569,87$
- Temperatur 35⁰ C = $31,016 + 22,165 + 17,338 + \dots + 65,899 = 456,97$
- Temperatur 45⁰ C = $43,72 + 43,778 + 45,09 + \dots + 46,83 = 146,92$

$$\text{Total nilai temperatur} = 569,87 + 456,97 + 146,92 = 1173,76$$

Dengan cara yang sama total nilai Pelarut dan total nilai F:S dapat dihitung.

Setelah semua data di atas diperoleh dapat dihitung nilai ANOVA nya, seperti tabel di bawah ini.

Variasi	Jumlah kuadrat	DOF	Kuadrat rata-rata	Fo
Perlakuan A	484.9829863	2	242.4914932	9.57789979
Perlakuan B	3219.249069	2	1609.624534	63.576756
Perlakuan C	164.9667334	2	82.48336672	3.25791808
Interaksi AB	761.2260616	4	190.3065154	7.51670382
Interaksi AC	187.6240276	4	66.12727961	2.61188732
Interaksi BC	264.5091184	4	81.71434415	3.22754332
Interaksi ABC	653.7147532	8	46.90600689	1.85268781
Kesalahan percobaan	683.581	27	25.31781481	

Nilai jumlah kuadrat perlakuan A (temperatur) dapat diperoleh dari perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{Jumlah kuadrat} &= \frac{569,87^2 + 456,97^2 + 146,92^2}{18} - \frac{21922821,95^2}{54} \\ &= 484,9829863 \end{aligned}$$

Dengan cara yang sama, dapat diperoleh nilai dari jumlah kuadrat temperatur sebesar 3219,249069 dan jumlah kuadrat F:S sebesar 164,9667334.

Nilai jumlah kuadrat interaksi A (temperatur) dan B (pelarut) dapat diperoleh dari perhitungan

Jumlah kuadrat interaksi temperatur dan pelarut

$$= \frac{151,86^2 + 146,92^2 + 271,09^2 + 70,52^2 + 163,26^2 + 223,19^2 + 132,59^2 + 132,09^2 + 189,3^2}{6} - 484,98298 - 3219,249069 - \frac{21922821,95^2}{54} = 761,2260616$$

Dengan cara yang sama dapat dihitung jumlah kuadrat masing – masing interaksi.

DOF

DOF temperatur	= (3-1) = 2
DOF pelarut	= (3-1) = 2
DOF F:S	= (3-1) = 2
DOF Interaksi Temperatur – Pelarut	= (3-1) x (3-1) = 4
DOF Interaksi Temperatur – F:S	= (3-1) x (3-1) = 4
DOF Interaksi Pelarut – F:S	= (3-1) x (3-1) = 4
DOF Interaksi Ketiganya	= (3-1) x (3-1) x (3-1) = 8
DOF kesalahan percobaan	= 3 x 3 x 3 x (2-1) = 27
DOF Total	= (3 x 3 x 3 x 2) – 1 = 53

Nilai kuadrat rata – rata diperoleh dengan membagi jumlah kuadrat dengan DOF.

$$\text{Kuadrat rata – rata Temperatur} = \frac{484,9829863}{3 - 1} = 242,4914932$$

Nilai FO perhitungan diperoleh dengan membagi kuadrat rata – rata masing – masing perlakuan dengan kuadrat rata – rata kesalahan percobaan.

$$F_o \text{ perhitungan} = \frac{242,4914932}{25,31781481} = 9,577899$$

Fo Tabel

Nilai Fo tabel diperoleh dari tabel distribusi F. Nilai α yang digunakan adalah 5%.

Fo tabel adalah $F_{\alpha, \text{DOF perlakuan}, \text{DOF error}}$

$$F_o \text{ tabel Temperatur} = F_{0,05;2;27} = 3,35$$

$$F_o \text{ tabel Pelarut} = F_{0,05;2;27} = 3,35$$

$$F_o \text{ tabel F:S} = F_{0,05;2;27} = 3,35$$

$$F_o \text{ tabel interaksi Temperatur - pelarut} = F_{0,05;4;27} = 2,73$$

$$F_o \text{ tabel interaksi Temperatur - F:S} = F_{0,05;4;27} = 2,73$$

$$F_o \text{ tabel interaksi pelarut - F:S} = F_{0,05;4;27} = 2,73$$

$$F_o \text{ tabel interaksi ketiganya} = F_{0,05;8;27} = 2,31$$

Analisis LSD

LSD Temperatur					
Temperatur	Temperatur	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
T kamar	35 ⁰ C	12.545	>	10.38539	Berbeda signifikan
T kamar	45 ⁰ C	12.87767	>	10.38539	Berbeda signifikan
35 ⁰ C	45 ⁰ C	0.332667	<	10.38539	Tidak berbeda signifikan

LSD Pelarut					
Pelarut		$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
Metanol	Metanol -Air	9.700111	<	10.38539	Tidak berbeda signifikan
Metanol	Air	36.51256	>	10.38539	Berbeda signifikan
Metanol - Air	Air	26.81244	>	10.38539	Berbeda signifikan

LSD Temperatur - Pelarut					
Temperatur	ph	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
T kamar	Metanol	23.87844444	>	10.38539	Berbeda signifikan
	Metanol - Air	14.17833333	>	10.38539	Berbeda signifikan
	Air	12.63411111	>	10.38539	Berbeda signifikan
35 ⁰ C	Metanol	11.33344444	>	10.38539	Berbeda signifikan
	Metanol - Air	1.633333333	<	10.38539	Tidak berbeda signifikan
	Air	25.17911111	>	10.38539	Berbeda signifikan
45 ⁰ C	Metanol	11.00077778	>	10.38539	Berbeda signifikan
	Metanol - Air	1.300666667	<	10.38539	Tidak berbeda signifikan
	Air	25.51177778	>	10.38539	Berbeda signifikan

LSD Pelarut - F:S					
Pelarut	F:S	$ \bar{y}_1 - \bar{y}_2 $		LSD	Keterangan
Metanol	1:07	19.281	>	10.38539	Berbeda signifikan
	1:10	16.12244444	>	10.38539	Berbeda signifikan
	1:15	10.80922222	>	10.38539	Berbeda signifikan
Metanol -Air	1:07	9.58088889	<	10.38539	Tidak berbeda signifikan
	1:10	6.422333333	<	10.38539	Tidak berbeda signifikan
	1:15	1.109111111	<	10.38539	Tidak berbeda signifikan
Air	1:07	17.23155556	>	10.38539	Berbeda signifikan
	1:10	20.39011111	>	10.38539	Tidak berbeda signifikan
	1:15	25.70333333	>	10.38539	Berbeda signifikan

Dalam analisis LSD, nilai absolut dari selisih rata – rata dari kedua variasi dibandingkan dengan nilai LSD. Jika nilai selisih rata – rata kedua variasi lebih besar dari LSD, berarti variasi yang dimaksud memiliki pengaruh yang berbeda secara signifikan.

$$LSD = t_{\frac{\alpha}{2}, N-a} \sqrt{MS_E \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} + \frac{1}{n_k} \right)}$$

$$t_{0,025;(27-3)} = 2,064$$

$$LSD = 2,064 \sqrt{25,3178 \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3} + \frac{1}{3} \right)} = 10,38539$$