



| | | | |
|--|--|----------------|-----------------------|
| | FORMULIR | No | F-08 |
| | | Berlaku | 1 januari 2013 |
| | FORMAT SAMPUL MUKA LAPORAN PENELITIAN | Revisi | 0 |
| | | Unit | LPPM |

Perjanjian No: III/LPPM/2015-02/21-P

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SENYAWA BIOAKTIF
DALAM BUAH STROBERI**



Disusun Oleh:
H. Maria Ingrid, Dra., Msc
Herry Santoso, ST., M.T.M., PhD

**Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Katolik Parahyangan
2015**

DAFTAR ISI

| | |
|--|----|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| DAFTAR ISI | ii |
| DAFTAR GAMBAR | iv |
| DAFTAR TABEL | v |
| ABSTRAK..... | vi |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.3 Tema Sentral Masalah | 2 |
| 1.4 Urgensi Penelitian..... | 3 |
| 1.5 Hipotesis..... | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1 Tanaman Buah Stroberi..... | 4 |
| 2.1.1 Taksonomi Stroberi..... | 5 |
| 2.1.2 Komposisi Buah Stroberi..... | 5 |
| 2.2 Senyawa Fitokimia | 6 |
| 2.2.1 Antosianin..... | 6 |
| 2.2.2 <i>Ellagic Acid</i> | 7 |
| 2.2.3 <i>Kaempfenol, Quercetin, dan Catechin</i> | 7 |
| 2.3 Antioksidan | 8 |
| 2.3.1 Klasifikasi Antioksidan..... | 8 |
| 2.3.1.1 Antioksidan Primer | 9 |
| 2.3.1.2 Antioksidan Sekunder..... | 9 |
| 2.3.1.3 Antioksidan Tersier | 10 |
| 2.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan | 10 |
| 2.4 Radikal Bebas | 11 |
| 2.5 Ekstraksi..... | 12 |
| 2.6 Metode Analisis Antioksidan..... | 13 |
| 2.6.1 Uji Kuantitatif..... | 13 |
| 2.6.1.1 Kadar Antosianin..... | 13 |

| | |
|--|----|
| 2.6.1.2 Uji Aktivitas Antioksidan | 13 |
| 2.6.2 Uji Aktivitas Kualitatif | 14 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... | 15 |
| 3.1 Bahan Penelitian | 15 |
| 3.2 Peralatan Penelitian | 15 |
| 3.3 Metode Penelitian | 15 |
| 3.3.1 Persiapan Bahan | 16 |
| 3.3.2 Penentuan Waktu Ekstraksi..... | 17 |
| 3.3.3 Penentuan Jenis Pelarut | 17 |
| 3.3.4 Ekstraksi Antioksidan | 18 |
| 3.4 Metode Analisis | 19 |
| 3.5 Rancangan Percobaan..... | 21 |
| BAB IV JADWAL PELAKSANAAN | 22 |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN | 23 |
| 5.1 Ekstraksi Jenis Pelarut..... | 23 |
| 5.2 Aktivitas Antioksidan..... | 24 |
| 5.3 Kadar Fenolik Total..... | 26 |
| 5.4 Kadar Antosianin | 27 |
| 5.5 Kadar Flavonoid | 28 |
| 5.6 Vitamin C | 29 |
| 5.7 Rendemen..... | 30 |
| 5.8 Uji Senyawa Fitokimia..... | 31 |
| BAB VI KESIMPULAN | 32 |
| DAFTAR PUSTAKA | 33 |
| LAMPIRAN A PROSEDUR ANALISIS | 36 |
| LAMPIRAN B DATA DAN HASIL PENELITIAN | 41 |
| LAMPIRAN C GRAFIK | 48 |
| LAMPIRAN D CONTOH PERHITUNGAN | 54 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Tanaman Buah Stroberi..... | 4 |
| Gambar 2.2 Struktur Kimia Antosianin | 7 |
| Gambar 2.3 Struktur Kimia <i>Ellagic Acid</i> | 7 |
| Gambar 2.4 Struktur Kimia Vitamin E | 9 |
| Gambar 2.5 Struktur Kimia Vitamin C | 10 |
| Gambar 2.6 Rumus Bangun DPPH | 13 |
| Gambar 2.7 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan | 14 |
| Gambar 3.1 Susunan Alat Ekstraksi..... | 15 |
| Gambar 3.2 Diagram Ekstraksi Stroberi | 16 |
| Gambar 3.3 Diagram Alir Persiapan Bahan | 17 |
| Gambar 3.4 Diagram Alir Penentuan Waktu Ekstraksi | 17 |
| Gambar 3.5 Diagram Penentuan Jenis Pelarut..... | 18 |
| Gambar 3.6 Diagram Alir Ekstraksi Antioksidan | 18 |
| Gambar 3.7 Diagram Penentuan Aktivitas Antioksidan | 19 |
| Gambar 5.1 Grafik IC ₅₀ pada Berbagai Temperatur dan Jenis Pelarut | 24 |
| Gambar 5.2 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH | 25 |
| Gambar 5.3 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap IC ₅₀ | 26 |
| Gambar 5.4 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Kadar Fenolik | 27 |
| Gambar 5.5 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Kadar Antosianin | 28 |
| Gambar 5.6 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Flavonoid | 29 |
| Gambar 5.7 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Vitamin C | 30 |
| Gambar 5.8 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Rendemen..... | 31 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1 Komposisi Nutrisi Stroberi | 6 |
| Tabel 2.2 Komposisi Antioksidan Buah Stroberi..... | 8 |
| Tabel 2.3 Radikal Bebas | 11 |
| Tabel 2.4 Sifat Pelarut pada Proses Ekstraksi Bahan Alam | 12 |
| Tabel 3.1 Matriks Rancangan Percobaan..... | 21 |
| Tabel 4.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian..... | 22 |
| Tabel 5.1 Hasil IC ₅₀ pada Berbagai Temperatur dan Jenis Pelarut | 23 |
| Tabel 5.2 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan IC ₅₀ | 24 |
| Tabel 5.3 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap IC ₅₀ | 25 |
| Tabel 5.4 Tabel Analisa Rancangan Percobaan IC ₅₀ pada Berbagai Temperatur Dan F:S | 25 |
| Tabel 5.5 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Kadar Fenolik | 27 |
| Tabel 5.6 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Kadar Antosianin | 28 |
| Tabel 5.7 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Kadar Flavonoid..... | 29 |
| Tabel 5.8 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Vitamin C | 30 |
| Tabel 5.9 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Rendemen | 31 |
| Tabel 5.10 Uji Fitokimia | 31 |

ABSTRAK

Stroberi merupakan tanaman yang banyak tumbuh di dataran tinggi Jawa Barat. Stroberi adalah sumber senyawa bioaktif, kaya akan asam askorbat, antosianin dan senyawa fenol, mempunyai kapasitas antioksidan yang tinggi. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dan dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas, dengan demikian dapat mencegah terjadinya degeneratif dan kerusakan sel.

Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari kondisi ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan serta karakteristik senyawa bioaktif yg terdapat dalam ekstrak stroberi. Metode yang digunakan adalah ekstraksi padat cair dengan pelarut metanol, etanol atau air, pada temperatur ekstraksi 30°C, 40°C dan 50°C dan perbandingan umpan:pelarut adalah 1:10, 1:15 dan 1:20. Hasil analisis menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi dalam IC₅₀ (penghambatan terhadap radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) adalah 20,6 mg/L. Kadar antosianin sebesar 20,8 mg/L, flavonoid 42,0 mg/100 gram, kadar fenolik total 228,9 mg/100 g dan kadar vitamin C adalah 122,5 mg/g pada temperatur 40°C dengan pelarut etanol dan F:S 1:20, rendemen 69,3%. Hasil uji kualitatif terhadap senyawa fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak stroberi mengandung senyawa fenol, flavonoid, antosianin dan terpenoid.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati. Iklim tropis Indonesia sangat mendukung sebagai tempat pengembangan budidaya tanaman obat. Salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia adalah stroberi, khususnya di Jawa Barat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa stroberi adalah sumber senyawa bioaktif, kaya akan asam askorbat, antosianin dan senyawa fenol, memiliki kadar antioksidan yang cukup tinggi. Antioksidan adalah senyawa organik yang dapat memperlambat atau mencegah reaksi oksidasi, dan dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Dalam tubuh manusia radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel.

Radikal bebas merupakan senyawa yang reaktif dan tidak stabil, mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, dapat menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel tubuh manusia, kondisi tersebut dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit seperti kanker, jantung koroner, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.

Di Indonesia, kesehatan merupakan masalah yang cukup serius. Banyak penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Faktor lingkungan seperti polusi, intensitas sinar uv yang berlebih, suhu, bahan kimia, dan kekurangan gizi dapat mengakibatkan tubuh manusia terpapar radikal bebas, apabila radikal bebas berlebihan, akan menciptakan ketidakseimbangan antara molekul radikal bebas dan antioksidan endogen. Ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya, maka terbentuk stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan struktur sel, jaringan dan organ (Vierkotter, dkk, 2009).

Antioksidan asam fenolat, polifenol, flavonoid dapat menghambat radikal peroksida, hidroperoksida atau *lipid peroxy*, menghambat mekanisme oksidatif, sehingga mencegah terjadinya degeneratif, selain itu berguna sebagai anti tumor dan mempunyai efek pencegahan pada kerusakan hati. Flavonoid memiliki kemampuan anti-inflamasi dan

antioksidan terbukti mampu menghambat proses stres oksidatif pada penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif.

Antioksidan dapat dimanfaatkan pada berbagai produk pangan sebagai aditif untuk mencegah kerusakan akibat oksidasi, diantaranya untuk mencegah oksidasi lipid, perubahan warna dan aroma pada pangan, selain itu antioksidan juga dapat berperan sebagai pengawet pangan.

Salah satu alternatif antioksidan alami yang cukup potensial adalah buah stroberi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa stroberi selain merupakan sumber vitamin C, antosianin dan senyawa fenol, mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, sekitar 2-11 kali apel, peach, pear, anggur, tomat atau jeruk, Penelitian lebih lanjut diketahui antioksidan pada stroberi dapat menghambat HepG2 pada sel kanker liver (Ya Luo, 2011). Berdasarkan potensi yang dimiliki buah stroberi sebagai antioksidan alami dan mengandung komponen yang bioaktif (flavonoid, fenol, antosianin) serta zat warna antosianin, perlu dipelajari lebih lanjut proses ekstraksi antioksidan dan senyawa bioaktif pada buah stroberi, sehingga dapat dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai produk pangan, pewarna makanan alami, pengawet makanan, dan suplemen kesehatan atau herbal.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengekstraksi antioksidan pada buah stroberi dengan optimasi kondisi ekstraksi.
2. Mempelajari pengaruh jenis pelarut yang digunakan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak buah stroberi.
3. Mempelajari pengaruh temperatur dan perbandingan umpan pelarut terhadap aktivitas dan kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak buah stroberi.
4. Mempelajari karakteristik antioksidan dan senyawa bioaktif pada ekstrak buah stroberi.

1.3 Tema Sentral Masalah

Tema sentral masalah penelitian ini adalah mengekstraksi komponen bioaktif buah stroberi, mencari kondisi ekstraksi optimum yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, selain itu melakukan analisis komponen aktif pada ekstrak buah stroberi.

1.4 Urgensi Penelitian

Stroberi adalah tanaman yang banyak mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid, fenol, antosianin dan *ellagic acid* (Franco,2012), selain itu buah stroberi memiliki kadar antioksidan dan nilai gizi yang tinggi, kaya akan vitamin C, antosianin dan senyawa fenol, buah stroberi memiliki aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik yang lebih tinggi dari buah lain, mempunyai aktivitas sekitar 2-11 kali apel, peach, pear, anggur, tomat atau jeruk, Penelitian lebih lanjut diketahui antioksidan pada stroberi dapat menghambat HepG2 pada sel kanker liver(Ya Luo, 2011). Aktivitas antioksidan akan berkurang selama proses pengolahan dan penyimpanan, kenaikan suhu dan pH dapat menyebabkan degradasi antosianin.

Berdasarkan potensi yang dimiliki buah stroberi sebagai antioksidan alami dan zat warna alami (antosianin) serta mengandung komponen bioaktif lainnya, yang berguna mencegah berbagai penyakit, maka perlu dipelajari kondisi optimum ekstraksi sehingga diperoleh antioksidan dengan aktivitas yang tinggi, serta kandungan komponen aktif yang maksimum pada ekstrak buah stroberi.

Tujuan jangka panjang adalah buah stroberi dapat dibudidayakan secara luas, dapat dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai produk pangan yang kaya antioksidan, sebagai zat warna alami dan pengawet makanan alami, dengan demikian pemanfaatan ekstrak buah yang kaya antioksidan untuk meredakan berbagai penyakit dapat tercapai.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan studi pustaka dapat ditarik beberapa hipotesis, yaitu :

1. Ekstraksi dengan pelarut yang sesuai dapat memperbaiki pemisahan senyawa bioaktif dalam buah stroberi.
2. Kepolaran pelarut mempengaruhi kandungan antioksidan dan senyawa bioaktif dalam proses ekstraksi buah stroberi.
3. Temperatur ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan, kadar fenolik total, antosianin dan kadar flavonoid, dalam proses ekstraksi antioksidan pada buah stroberi.

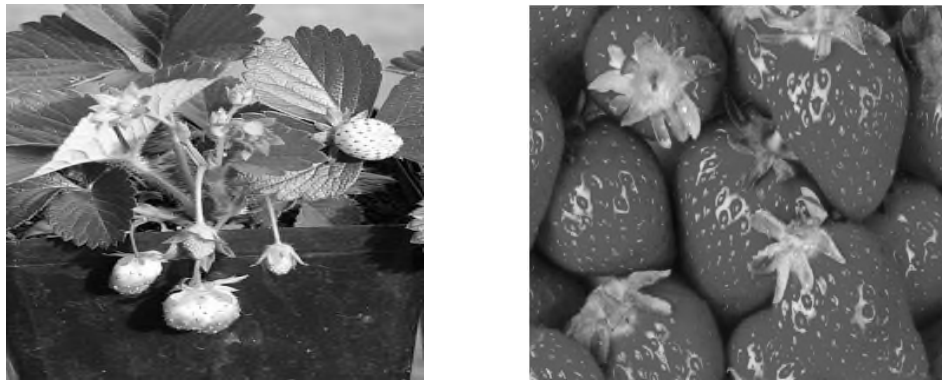
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Stroberi

Stroberi adalah tanaman dengan famili *Rosaceae*. Tanaman stroberi umumnya tumbuh pada daerah dataran tinggi dengan suhu udara yang sejuk, di Jawa Barat stroberi banyak dibudidayakan pada daerah Lembang dan Cianjur. Tanaman stroberi merupakan tanaman herbal. Buah stroberi memiliki struktur akar tanaman yang terdiri atas pangkal akar, batang akar, ujung akar, bulu akar serta tudung akar. Tanaman stroberi berakar tunggang panjangnya dapat mencapai 100 cm, akan tetapi pada umumnya hanya menembus lapisan atas tanah sedalam 15 cm – 45 cm. Bunga stroberi tersusun sebagai bunga majemuk yang berukuran panjang, terletak pada ujung tanaman. Batang tanaman stroberi beruas-ruas pendek dan berbuku-buku, banyak mengandung air.

Buah stroberi mengandung banyak air dan serat, memiliki banyak biji kecil pada bagian buahnya. Buah stroberi umumnya berbentuk kerucut hingga bulat, buah yang muda berwarna hijau namun setelah tua berubah menjadi warna merah atau kuning kemerah-merahan. Biji stroberi berukuran kecil dan terletak diantara daging buah (Francesca Giampieri, et al., 2012).



Gambar 2.1 Tanaman Buah stroberi

Sifat dan ketahanan buah stroberi untuk setiap varietas berbeda, sehingga perlakuan yang diberikan untuk setiap varietas dapat berbeda. Kondisi ini mengakibatkan buah stroberi yang dipanen, baik waktu maupun tingkat kesegaran dan kekerasan buah tidak sama. Kualitas stroberi ditentukan oleh rasa, kemulusan kulit dan keutuhan akibat benturan atau hama penyakit.

2.1.1 Taksonomi Stroberi

Tanaman stroberi diklasifikasikan sebagai berikut (Francesca Giampieri, et al., 2012):

| | |
|-----------|--|
| Kingdom | : <i>Plantae</i> (tumbuhan) |
| Divisi | : <i>Spermatophyta</i> (tumbuhan berbiji) |
| Subdivisi | : <i>Angiospermae</i> |
| Kelas | : <i>Discotyledonae</i> (biji berkeping dua) |
| Subkelas | : <i>Rosidae</i> |
| Ordo | : <i>Rosales</i> |
| Famili | : <i>Rosaceae</i> (suku mawar-mawar) |
| Genus | : <i>Fragaria</i> |
| Spesies | : <i>Fragaria x ananassa</i> |

Stroberi merupakan buah yang sangat berguna untuk kesehatan manusia karena mengandung banyak nutrisi dan senyawa bioaktif, diantaranya adalah senyawa fenol vitamin C, flavonoid dan *ellagic acid*. Biji stroberi mengandung 72% asam lemak tidak jenuh dan mikronutrien esensial sebesar 20-25 µg/100 g buah segar. Warna merah pada stroberi disebabkan adanya pigmen alami yang kaya akan senyawa polifenol seperti antosianin, dari hasil penelitian didapat kadar antosianin pada stroberi adalah 150-600mg/kg buah segar (Francesca Giampieri, et al., 2012). Antosianin dalam stroberi tidak hanya memberikan warna merah yang menarik, tetapi juga berfungsi sebagai antioksidan, antioksidan dalam tubuh manusia bermanfaat untuk menetralkan radikal bebas, antioksidan membantu tubuh untuk mencegah jaringan sel yang rusak, selain itu bermanfaat sebagai *anti-aging* dan menghambat sel kanker liver (Ya Luo, et al., 2011.)

2.1.2 Komposisi Buah Stroberi

Stroberi mengandung berbagai vitamin, mineral, protein, lemak dan karbohidrat. Buah stroberi kaya akan pigmen warna antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan, kaya akan vitamin C dan potassium (Francesca Giampieri, et al., 2012). Kandungan vitamin dan mineral pada 100 gram buah stroberi segar dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Komposisi Nutrisi Stroberi

| Kategori | Nutrient | Kandungan | Satuan |
|---------------|-------------|-----------|--------|
| Uji Proksimat | Kadar air | 90,95 | g |
| | Energi | 32 | Kkal |
| | Protein | 0,67 | g |
| | Lemak | 0,30 | g |
| | Karbohidrat | 7,68 | g |
| | Serat | 2,0 | g |
| | Kadar abu | 0,40 | g |
| | Gula | 4,89 | g |
| Vitamin | Zat besi | 0,41 | mg |
| | Magnesium | 13 | mg |
| | Fosfor | 24 | mg |
| | Potasium | 153 | mg |
| | Sodium | 1 | mg |
| | Zink | 0,14 | mg |
| | Copper | 0,048 | mg |
| Vitamin | Vitamin C | 58,8 | mg |
| | Thiamin | 0,024 | mg |
| | Folat | 24 | ug |
| | Riboflavin | 0,022 | mg |
| | Vitamin E | 0,29 | mg |
| | Vitamin A | 1 | µg |
| | Vitamin K | 2,2 | ug |

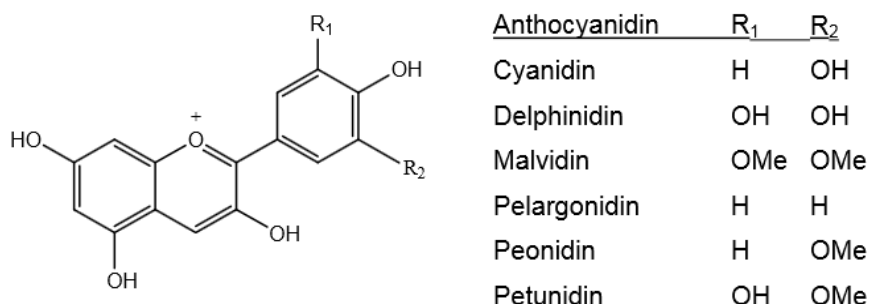
2.2 Senyawa Fitokimia

Senyawa fitokimia yang terdapat dalam stroberi adalah golongan fenol, komponen yang terbanyak adalah flavonoid (terutama antosianin, flavonol), tannin (*ellagitannin* dan *gallotannin*), asam fenolat (asam hidroksibenzoat dan asam hidroksisinat) dan *proanthocyanidin* sebagai komponen minor (Francesca Giampieri, et al 2012; Kong JM, 2003). Golongan senyawa fenol banyak ditemukan pada tanaman. Senyawa fenol yang mengandung lebih dari satu gugus hidroksi pada cincin aromatik disebut polifenol. Senyawa ini dapat membentuk eter, ester atau glikosida.

2.2.1 Antosianin

Antosianin merupakan senyawa penting dalam stroberi, termasuk golongan senyawa polifenol, kandungan antosianin pada stroberi sekitar 150-600 mg/kg buah segar. Antosianin merupakan pigmen pemberi warna merah pada stroberi, antosianin pada stroberi merupakan derivat dari *pelargonidin* (Pg) dan *cyanidin* (Cy) *aglycone*, jenis antosianin yang paling banyak terdapat dalam buah adalah *Pg 3-glucoside* (Pg 3-gluc),

selain itu diketahui terdapat sekitar dua puluh lima pigmen antosianin dalam berbagai varietas stroberi (Lopes da Silva, 2007). Berikut adalah struktur kimia dari antosianin :

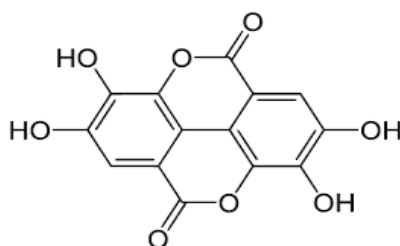


Gambar 2.2 Struktur Kimia Antosianin

Warna pigmen antosianin sangat dipengaruhi oleh pH larutan, pada kondisi asam bentuk pigmen antosianin adalah kation flavilium yang berwarna merah ungu. Stabilitas antosianin dipengaruhi oleh pH, temperatur dan kehadiran oksigen atau cahaya. Antosianin umumnya tidak stabil pada temperatur tinggi, sehingga selama proses pengolahan atau penyimpanan dapat menyebabkan perubahan warna atau penurunan aktivitas antioksidan.

2.2.2 *Ellagic Acid*

Ellagic acid merupakan senyawa fenolik alami, jenis tanaman yang banyak mengandung *ellagic acid* di antaranya adalah stroberi dan apel. Pada stroberi, senyawa tersebut terdapat pada bagian biji, daun, dan daging buah. Kandungan *ellagic acid* dalam buah stroberi berkisar 0,43 – 4,64 mg per gram berat kering, salah satu manfaatnya adalah untuk mencegah kanker (Marcia da Silva Pinto, 2007).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Ellagic Acid

2.2.3 *Kaempferol, Quercetin dan Catechin*

Stroberi juga mengandung komponen fenolik lain yang berfungsi sebagai antioksidan, senyawa tersebut adalah *kaempferol*, *quercetin* dan *catechin* (Francesca Giampieri, et al 2012).

2.3 Antioksidan

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam buah stroberi yaitu antosianin, asam ellagik, katekin, kuaerferin, dan kaemferol. Kandungan antioksidan yang terdapat dalam buah stroberi dapat dilihat pada tabel dibawah :

Tabel 2.2 Komposisi Antioksidan Buah Stroberi (100 gr Buah)

(Marcia da Silva Pinto, 2007; Lauro, G.J., 2000)

| No. | Komponen | Komposisi |
|-----|------------|------------|
| 1 | Antosianin | 15-35 mg |
| 2 | Vitamin C | 56-60 mg |
| 3 | Flavonoid | 48 ± 2 mg |
| 4 | Fenol | 262 ± 8 mg |

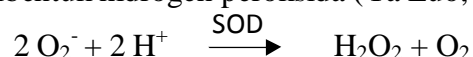
Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menghambat atau memperlambat proses oksidasi. Oksidasi merupakan reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen, atau pelepasan elektron. Reaksi oksidasi adalah proses alami yang terjadi di alam dan di dalam tubuh. Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dapat mencegah terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi (Schuler P., 1990). Antioksidan juga berfungsi untuk melindungi sel dari pengaruh radikal bebas yang reaktif, radikal bebas dapat berasal dari metabolisme tubuh maupun faktor eksternal lainnya (Halliwell B, 1995). Radikal bebas adalah atom atau molekul yang reaktif, memiliki elektron yang tidak berpasangan, hal tersebut menyebabkan radikal bebas reaktif dan berusaha mencari pasangan elektron dari molekul disekitarnya, seperti protein, lipid dan DNA. Dalam tubuh manusia radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein dan lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa radikal bebas sehingga radikal bebas dapat dinetralkan. Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenol dan polifenol. Senyawa tersebut banyak terdapat dalam tumbuhan. Antioksidan yang sering ditemukan antara lain vitamin E, vitamin C, karotenoid.

2.3.1 Klasifikasi antioksidan

Berdasarkan mekanisme reaksinya, antioksidan dibagi menjadi tiga golongan yaitu: antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier.

2.3.1.1 Antioksidan primer

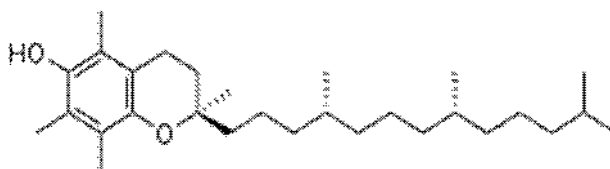
Sering disebut antioksidan endogen atau antioksidan enzimatik. Antioksidan ini berfungsi untuk menghentikan reaksi rantai sehingga membentuk produk yang lebih stabil. Pada umumnya yang termasuk golongan antioksidan primer adalah enzim oksidatif, sebagai contoh enzim superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), askorbat peroksidase dan glutathion reduktase (GR). Sebagai contoh enzim superoksida dismutase dapat bereaksi dengan radikal bebas membentuk hidrogen peroksida (Ya Luo, 2011).



2.3.1.2 Antioksidan sekunder

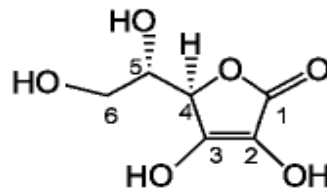
Sering disebut antioksidan eksogen. Antioksidan ini berfungsi untuk menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga mencegah terjadi kerusakan yang lebih lanjut. Contoh dari antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, beta-karoten dan isoflavon.

Vitamin E (alfa-tokoferol) adalah antioksidan yang dapat larut dalam lemak terdapat didalam sel. Fungsi utama vitamin E adalah mencegah oksidasi membran fosfolipid. Karakteristik vitamin E yang lipofilik memungkinkan tokoferol berada pada lapisan dalam sel membran. Struktur kimia vitamin E dapat dilihat dibawah ini :



Gambar 2.4 Struktur Kimia Vitamin E

Vitamin C adalah salah satu vitamin yang larut dalam air dan memiliki peranan penting dalam mencegah berbagai penyakit, dikenal dengan nama asam askorbat. Vitamin C mampu menangkal berbagai radikal bebas. Vitamin C sangat mudah teroksidasi oleh panas dan cahaya. Buah-buahan seperti jeruk, merupakan sumber utama vitamin C. Kadar vitamin C dalam stroberi adalah 58,8 mg, untuk setiap 100 mg stroberi segar. Kandungan vitamin C stroberi lebih tinggi dibandingkan buah jeruk.



(1) L-Ascorbic acid

Gambar 2.5 Struktur Kimia Vitamin C

2.3.1.3 Antioksidan tersier

Antioksidan ini berfungsi untuk memperbaiki sel-sel dan jaringan tubuh yang rusak disebabkan oleh radikal bebas. Contoh dari antioksidan tersier umumnya adalah enzim metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim metionin sulfoksidan reduktase sangat dibutuhkan tubuh untuk mencegah penyakit kanker.

2.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

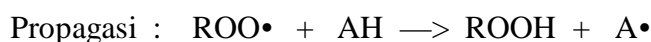
Antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama adalah sebagai pemberi atom hidrogen, senyawa ini dapat memberi atom hidrogen secara cepat pada radikal lipida ($R\cdot$, $ROO\cdot$) atau mengubahnya menjadi bentuk yang stabil, sementara turunan radikal antioksidan ($A\cdot$) memiliki keadaan yang lebih stabil dibandingkan radikal lipid. Fungsi yang kedua adalah memperlambat laju reaksi, mengubah radikal lipida ($R\cdot$, $ROO\cdot$) menjadi bentuk yang stabil.

Penambahan antioksidan (AH) dengan konsentrasi yang rendah pada lipid dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lipid pada tahap inisiasi dan propagasi. Radikal antioksidan ($A\cdot$) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipid lain membentuk radikal lipid baru.

Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida adalah sebagai berikut (Coulson, JM, 1999):



Radikal lipid



Tanpa adanya antioksidan reaksi oksidasi lipid akan berlanjut ke tahap terminasi.

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus menerus dalam tubuh, dan menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel, bila tidak dihentikan akan mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak dan DNA sel, sehingga dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.

Manusia telah memiliki sistem pertahanan terhadap oksidasi yang berasal dari dalam maupun luar tubuh. Pertahanan tubuh dari dalam berupa enzim-enzim peroksidase, katalase, glutathione, tetapi seringkali enzim tersebut tidak mencukupi akibat pengaruh lingkungan yang buruk. Pada kondisi ini manusia membutuhkan antioksidan yang diperoleh dari makanan.

Sumber radikal bebas ada dua yaitu yang berasal dari dalam tubuh sendiri (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Sumber radikal bebas endogen berasal dari dalam sel oleh mitokondria, lisosom, *endoplasmic reticulum* dan inti sel. Sumber radikal bebas eksogen dapat berasal dari polutan, obat, makanan, radiasi, asap rokok, bahan pengawet, pestisida dan lainnya. Beberapa contoh senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang ditemukan pada organisme hidup adalah superoksida (O_2^*), hidroksil (OH^*), peroksil (RO_2^*), alkoksil (RO^*) dan hidroperoksil (HO_2^*) (Mark Percival, 1998). Berikut ini adalah beberapa contoh radikal bebas:

Tabel 2.3. Radikal Bebas (Mark Percival, 1998)

| Kelompok Oksigen Reaktif | |
|--------------------------|---|
| O_2^* | Radikal Superoksida (<i>Superoxide radical</i>) |
| OH^* | Radikal hidroksil (<i>Hydroxyl radical</i>) |
| ROO^* | Radikal peroksil (<i>Peroxyl radical</i>) |
| $H_2O_2^*$ | Hidrogen peroksida (<i>Hydrogen peroxide</i>) |
| 1O_2 | Oksigen tunggal (<i>Singlet oxygen</i>) |
| NO^* | Nitrit oksida (<i>Nitric oxide</i>) |
| $ONOO^*$ | Nitrit peroksida (<i>Peroxynitrite</i>) |
| $HOCl$ | Asam hipoklor (<i>Hypochlorous acid</i>) |

Radikal bebas juga disebut sebagai spesies oksigen reaktif (ROS) yang mencakup semua molekul yang mengandung oksigen yang sangat reaktif. Tekanan oksidatif (*oxidative stress*) merupakan suatu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif (ROS) yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen. Keadaan ini akan menyebabkan tubuh kelebihan radikal bebas, sehingga dapat menyebabkan oksidasi pada lemak, protein dan kerusakan DNA.

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Terdapat dua jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Ekstraksi cair-cair merupakan proses pemisahan solute dari cairan pembawanya (diluen) dengan menggunakan pelarut cair. Sedangkan ekstraksi padat-cair merupakan proses pemisahan solute dari padatan dengan menggunakan pelarut cair. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi adalah ukuran partikel, jenis pelarut, temperatur, pengadukan dan polaritas pelarut (Coulson, JM, 1990).

Sifat-sifat pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2.4 Sifat Pelarut Pada Proses Ekstraksi Bahan Alam (Geankoplis, 2004)

| Pelarut | Indek Kepolaran | Titik didih (°C) | Viskositas (cPoise) | Kelarutan dalam air (% w/w) |
|--------------|-----------------|------------------|---------------------|-----------------------------|
| n-Heksan | 0,0 | 69 | 0,33 | 0,001 |
| Diklorometan | 3,1 | 41 | 0,44 | 1,6 |
| n-Butanol | 3,9 | 118 | 2,98 | 7,81 |
| Isopropanol | 3,9 | 82 | 2,30 | 100 |
| n-Propanol | 4,0 | 92 | 2,27 | 100 |
| Kloroform | 4,1 | 61 | 0,57 | 0,815 |
| Etil asetat | 4,4 | 77 | 0,45 | 8,7 |
| Aseton | 5,1 | 56 | 0,32 | 100 |
| Metanol | 5,1 | 65 | 0,60 | 100 |
| Etanol | 5,2 | 78 | 1,20 | 100 |
| Air | 9,0 | 100 | 1,00 | 100 |

Ekstraksi padat cair merupakan proses pemisahan komponen terlarut dalam suatu padatan dengan menggunakan pelarut cair. Prinsip dari ekstraksi padat cair atau *leaching* adalah difusi komponen terlarut dari padatan inert ke dalam pelarutnya. Faktor yang berpengaruh pada proses *leaching* adalah jumlah solut, sifat padatan, dan ukuran padatan. Proses *leaching* dimulai dari perpindahan pelarut menuju permukaan padatan, dilanjutkan

dengan difusi pelarut ke dalam padatan melalui pori-pori, kemudian solut berdifusi keluar dari permukaan padatan.

2.6 Metode Analisis Antioksidan

2.6.1 Uji Kuantitatif

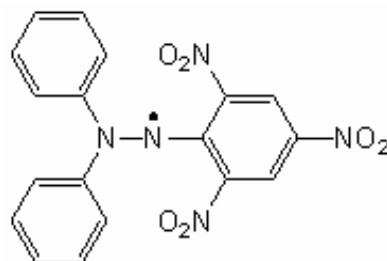
Analisis kuantitatif yang dilakukan adalah aktivitas antioksidan, penentuan kadar fenolik, antosianin, flavonoid dan vitamin C.

2.6.1.1 Kadar antosianin (Anderson, Ø. M, et al, 2001)

Metode yang digunakan dalam menguji kadar antosianin dilakukan pada pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa berwarna oxonium dan pada pH 4,5 berbentuk karbinol tak berwarna. Hal tersebut dapat dilakukan dengan membuat suatu alikuot larutan antosianin dalam air yang pH-nya 1,0 dan 4,5 untuk kemudian diukur absorbansinya.

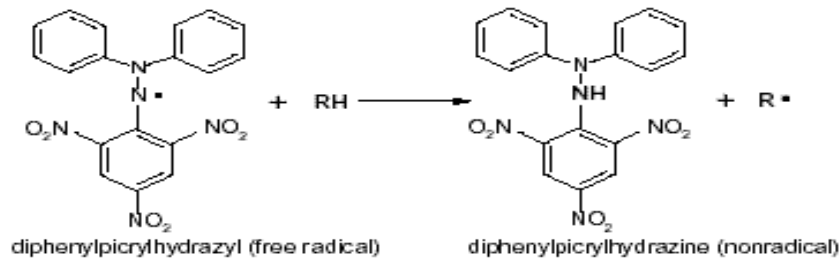
2.6.1.2 Uji Aktivitas Antioksidan (Devi Nurdianti, 2010)

DPPH merupakan radikal bebas yang umum digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan pada beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam.



Gambar 2.6. Rumus Bangun DPPH

Antioksidan dapat bereaksi dengan radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) sehingga akan terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning, kemudian diukur pada panjang gelombang 515 nm. Radikal bebas DPPH memiliki elektron tidak berpasangan, warna ungu akan berubah menjadi kuning saat radikal DPPH berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine*) (molyneux,2004).



Gambar 2.7 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan.

Aktivitas antioksidan pada metode DPPH dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibition Concentration*) yang menunjukkan konsentrasi ekstrak untuk menghambat aktivitas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} yang didapat, menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC_{50} antara 50-100 ppm, aktivitas antioksidan yang sedang bila IC_{50} bernilai 101-150 ppm, dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200 ppm.

2.6.2 Uji Kualitatif (Linnon Bastian Lumbanraja, 2009)

Uji fitokimia adalah analisa secara kualitatif terhadap senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan. Senyawa tersebut adalah golongan senyawa organik seperti polifenol, alkaloid, flavanoida, glikosida, terpenoida, dan lainnya.

a) Uji polifenol

Sebanyak 4 gr ekstrak kasar ditambahkan air panas, kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi $FeCl_3$ 1%. Jika hasilnya terbentuk warna hijau, biru atau ungu berarti hasil analisa positif mengandung polifenol.

b) Uji flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan 1 gr serbuk Mg dan 2 mL HCl 2N. Jika timbulnya warna kuning menunjukkan adanya kadar flavonoid.

c) Uji antosianin

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes HCl 0,1 N. Jika timbul warna merah menunjukkan adanya senyawa antosianin.

BAB III

METODE PENELITIAN

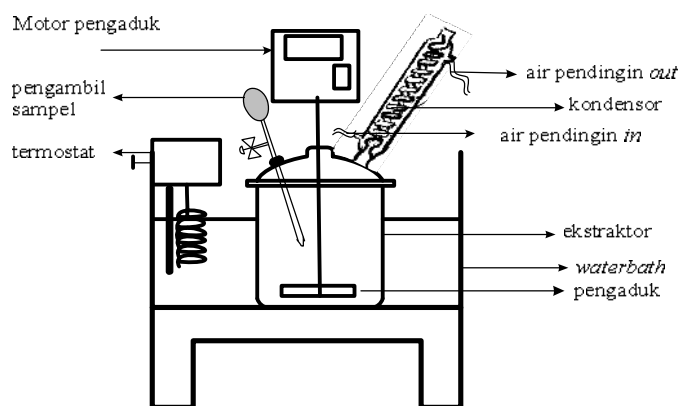
Dalam ekstraksi antioksidan dan senyawa aktif buah stroberi digunakan bahan-bahan dan peralatan sebagai berikut:

3.1 Bahan Penelitian

Bahan baku utama yang digunakan adalah buah stroberi dari supermarket Bandung. Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut metanol 80% dan etanol 80%. Bahan analisis yang digunakan adalah larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), Folin Ciocalteu, buffer pH 1 (kalium klorida) dan buffer pH 4,5 (natrium asetat), larutan 7% Na_2CO_3 , NaNO_2 5%, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 %.

3.2 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi spektrofotometer, motor pengaduk, termostat, kondensor, *waterbath*, ekstraktor dan *rotary evaporator*. Rangkaian alat ekstraksi dapat dilihat pada gambar di bawah ini:

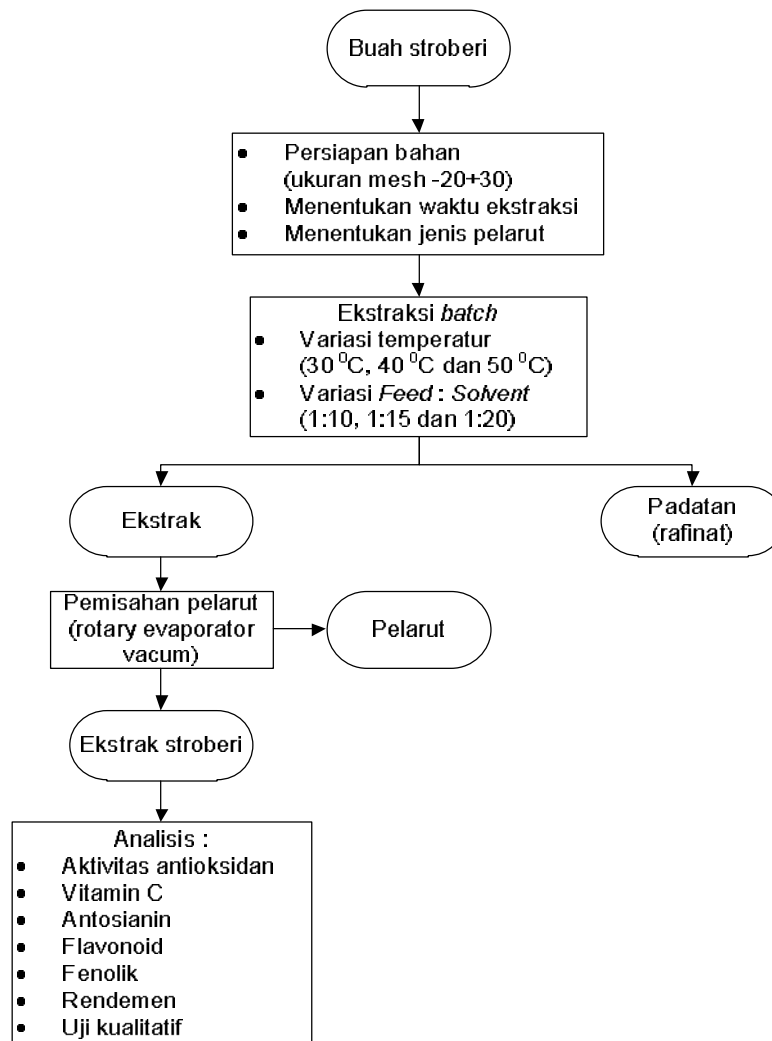


Gambar 3.1 Susunan Alat Ekstraksi

3.3 Metode Penelitian

Penelitian terdiri dari 3 tahap yaitu persiapan bahan baku, ekstraksi antioksidan stroberi dan analisis. Tahap awal ekstraksi dilakukan untuk menentukan waktu ekstraksi serta jenis

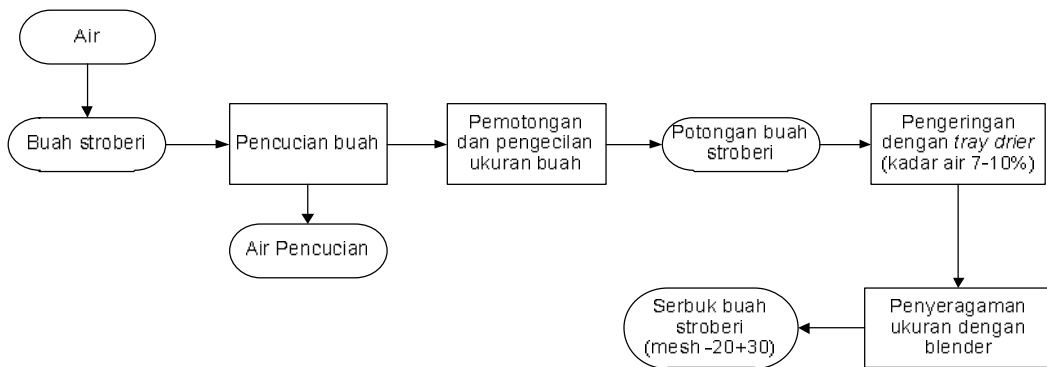
pelarut yang digunakan. Ekstraksi antioksidan dilakukan untuk mengetahui pengaruh temperatur ekstraksi dan perbandingan *feed : solvent*. Tahap analisis dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan, kadar fenolik, kadar flavonoid, kadar antosianin, vitamin C, dan uji fitikomia pada ekstraksi buah stroberi. Diagram percobaan dapat dilihat pada gambar 3.2.



Gambar 3.2 Diagram Ekstraksi Stroberi

3.3.1 Persiapan Bahan

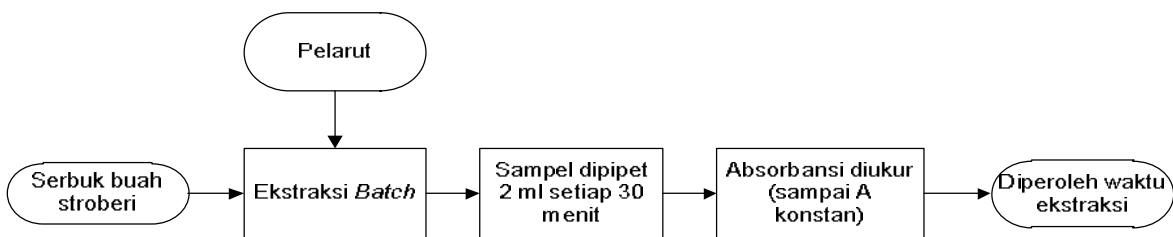
Buah stroberi dicuci, dipotong dan dikeringkan dengan *tray dryer* pada temperatur 35°C, dan kadar air diukur. Tahapan persiapan bahan baku dapat dilihat pada gambar 3.3.



Gambar 3.3 Diagram Persiapan Bahan

3.3.1 Penentuan waktu ekstraksi

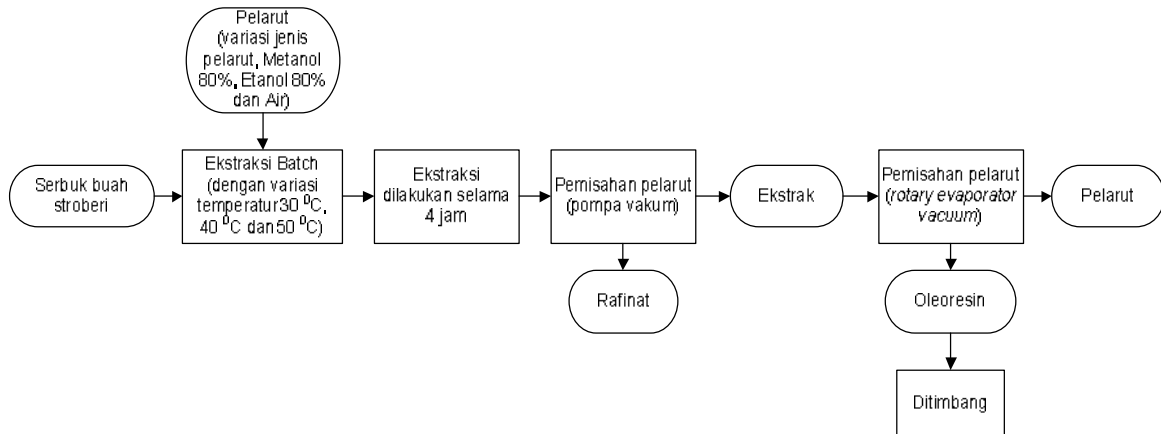
Waktu ekstraksi ditentukan dengan mengukur absorbansi dari warna ekstrak stroberi. Serbuk stroberi diekstraksi dengan etanol pada temperatur 30°C , F:S 1:15, sampling dilakukan setiap 30 menit dengan mengambil sampel sebanyak 2 mL untuk diukur absorbannya, waktu ekstraksi diperoleh setelah nilai absorban konstan. Tahapan penentuan waktu ekstraksi dapat dilihat pada gambar 3.4.



Gambar 3.4 Diagram Penentuan Waktu Ekstraksi

3.3.2 Penentuan Jenis Pelarut

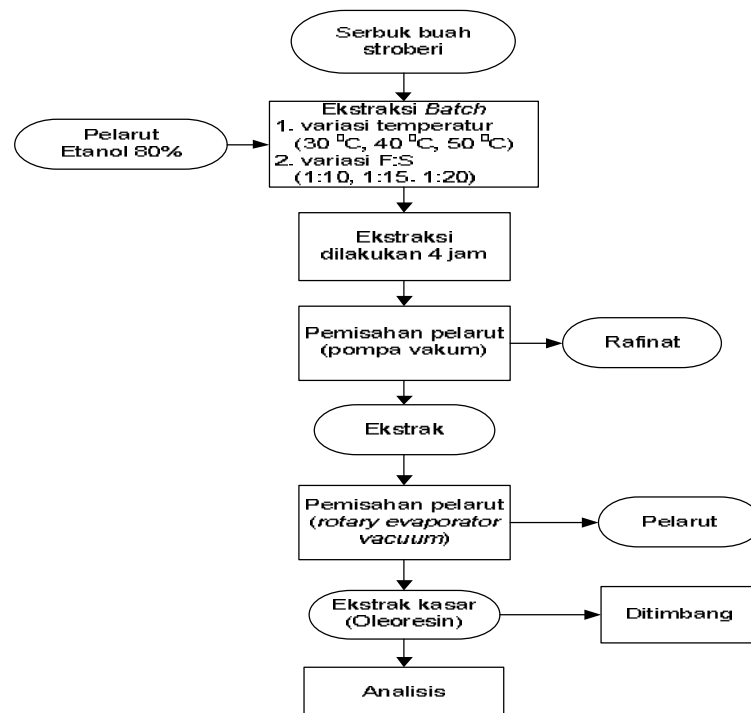
Penelitian dilakukan dengan ekstraktor *batch* 1,0 L, pelarut yang digunakan metanol 80%, etanol 80% dan air, pada temperatur 30°C , 40°C dan 50°C dengan F:S (umpan : pelarut) 1:20. Ekstrak dipisahkan dari pelarut dengan menggunakan pompa vakum setelah itu dilanjutkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Hal ini dilakukan agar meminimalkan pelarut yang masih ada di dalam ekstrak. Langkah-langkah percobaan dapat dilihat pada gambar 3.5.



Gambar 3.5 Diagram Penentuan Jenis Pelarut

3.3.3 Ekstraksi Antioksidan

Ekstraksi antioksidan stroberi dilakukan dengan ekstraktor *batch* 1,0 L, menggunakan pelarut etanol 80 %. Ekstraksi dilakukan dalam waktu 4 jam. Ekstrak dipisahkan dari padatan menggunakan pompa vakum, kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak stroberi. Bagan ekstraksi dapat dilihat pada gambar 3.5.



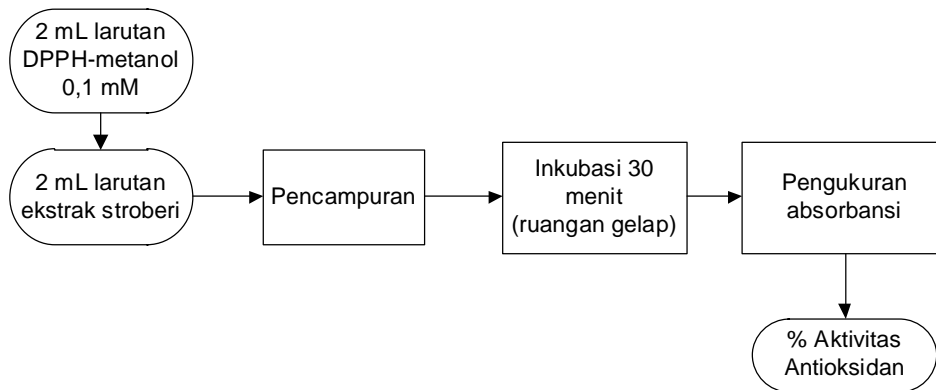
Gambar 3.6 Diagram Ekstraksi Antioksidan

3.4 Metode Analisis

Metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

a. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan dilakukan untuk menghitung besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak buah stroberi pada berbagai variasi temperatur dan F:S. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, absorbansi larutan ekstrak stroberi diukur pada λ maksimum (517 nm) dengan pereaksi DPPH 0,1 mM, kemudian % T diukur. Dari aktivitas antioksidan dapat dihitung nilai IC_{50} . IC_{50} menyatakan konsentrasi antioksidan yang dapat meredam 50% aktivitas radikal bebas.



Gambar 3.7 Diagram Penentuan Aktivitas Antioksidan

b. Uji kadar fenolik total

Kadar fenolik total diukur dengan menggunakan prinsip Folin-Ciocalteu berdasarkan reaksi oksidasi-reduksi. Reagen Folin terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat yang akan tereduksi oleh senyawa polifenol menjadi molibdenum-tungsten. Pengukuran total fenol dilakukan dengan membandingkan fenol dalam sampel dengan kurva standar fenol yang dibuat dari asam galat pada panjang gelombang 720 nm.

c. Uji kadar flavonoid

Analisis flavonoid total yang diukur merupakan golongan flavon dan flavonol yang terdapat pada ekstrak, kedua kelompok senyawa ini mampu membentuk

kompleks stabil dengan AlCl_3 (Chang et al. 2002). Kadar flavonoid secara kuantitatif didapat dari kurva standar *catechin* yang diukur pada panjang gelombang 510 nm.

d. Uji kadar vitamin C

Metode pengukuran kadar vitamin C dilakukan dengan menggunakan titrasi redoks. Ekstrak stroberi diencerkan, ditambah H_2SO_4 3 M dan larutan iodine. Warna larutan akan menjadi kuning. Kemudian ditambahkan larutan amilum sebagai indikator, warna larutan berubah menjadi biru. Selanjutnya kelebihan iodine dititrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M sampai warna berubah menjadi kuning.

e. Uji kadar antosianin

Analisa kadar antosianin dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan pada buffer pH 1 dan pH 4,5 pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa oxonium dan pada pH 4,5 berbentuk karbinol tak berwarna. Kadar antosianin ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

$$\text{Total Antosianin } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{A}{\epsilon \times L} \times MW \times DF \times \frac{V}{Wt} \times 100\%$$

Keterangan :

ϵ = Absorptivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26900 L/(mol.cm)

L = Lebar kuvet = 1 cm

MW = Berat molekul Sianidin-3-glukosida = 449,2 g/mol

DF = Faktor pengenceran

V = Volum akhir atau volum ekstrak pigmen (L)

Wt = Berat bahan awal (g)

f. Uji Fitokimia

Uji fitokimia adalah analisa secara kualitatif terhadap senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak buah stroberi. Senyawa fitokimia yang akan diuji adalah tanin, flavonoid, antosianin dan terpenoid.

3.5 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancang percobaan faktorial. Rancangan ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh dua faktor yaitu temperatur dan F:S serta interaksinya. Matriks rancangan percobaan dapat dilihat pada tabel 3.1. Perhitungan ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 3.1 Matriks Rancangan Percobaan

| Temperatur | F : S | | |
|------------|--------|--------|--------|
| | 1 : 10 | 1 : 15 | 1 : 20 |
| 30 °C | A1B1 | A1B2 | A1B3 |
| 40 °C | A2B1 | A2B2 | A2B3 |
| 50 °C | A3B1 | A3B2 | A3B3 |

BAB IV

JADWAL PELAKSANAAN

Kegiatan penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Teknik Kimia Universitas Katolik Parahyangan. Waktu pelaksanaan penelitian pada tahun 2015 terdapat pada tabel 3.3.

Tabel 4.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

| Kegiatan | Februari | Maret | April | Mei | Juni | Juli | Agustus | September | Oktober |
|----------------------------|----------|-------|-------|-----|------|------|---------|-----------|---------|
| Studi pustaka | | | | | | | | | |
| Persiapan alat dan bahan | | | | | | | | | |
| Persiapan sampel | | | | | | | | | |
| Percobaan | | | | | | | | | |
| Pembahasan hasil percobaan | | | | | | | | | |
| Pembuatan laporan | | | | | | | | | |

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kepolaran pelarut merupakan salah satu faktor yang penting pada ekstraksi antioksidan dan senyawa fenol dari suatu bahan alam. Komponen yang dapat terekstraksi adalah senyawa yang mempunyai polaritas sesuai dengan pelarutnya.

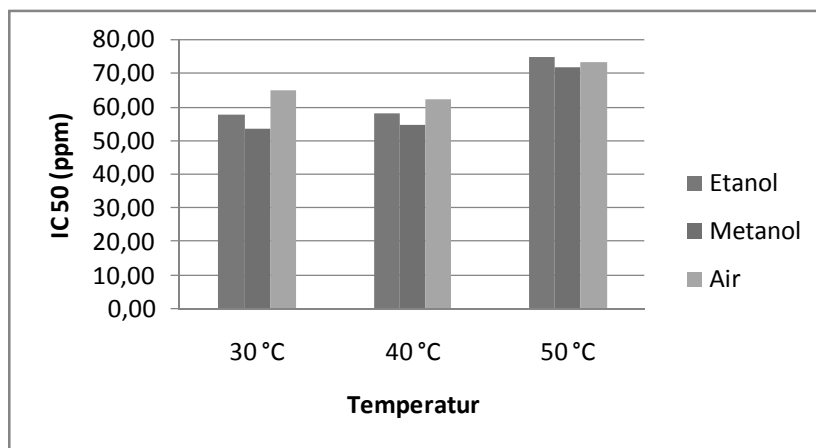
5.1 Penentuan Jenis Pelarut

Tahap awal penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh jenis pelarut (metanol, etanol dan air) dan temperatur ekstraksi (30⁰C, 40⁰C dan 50⁰C) terhadap aktivitas antioksidan dalam buah stroberi. Hasil penelitian pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan terbaik adalah pada temperatur 30⁰C dengan pelarut metanol diperoleh IC₅₀ 53,53 ppm, dan dengan pelarut etanol diperoleh 57,59 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak stroberi mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat (Blois, 1958 dan Molyneux, 2004). Nilai IC₅₀ yang rendah menyatakan antioksidan dapat menghambat radikal bebas lebih kuat.

Tabel 5.1 Hasil IC₅₀ pada berbagai Temperatur dan Jenis Pelarut

| Temperatur | IC ₅₀ (ppm) | | |
|-------------------|------------------------|--------|-------|
| | Metanol | Etanol | Air |
| 30 ⁰ C | 53,53 | 57,59 | 64,97 |
| 40 ⁰ C | 54,67 | 58,09 | 62,12 |
| 50 ⁰ C | 69,73 | 73,29 | 74,56 |

Perhitungan dengan ANOVA menyatakan bahwa Fo dari perhitungan untuk varian temperatur lebih besar dibandingkan dengan Fo tabel, Fo dari perhitungan untuk jenis pelarut lebih kecil dibandingkan dengan Fo tabel, berarti temperatur berpengaruh nyata terhadap IC₅₀, sedangkan jenis pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap IC₅₀. Pada ekstraksi dengan pelarut metanol diperoleh data antioksidan yang relatif lebih aktif dibandingkan dengan etanol dan akuades, tetapi metanol adalah pelarut yang bersifat toksik, sehingga untuk produk pangan lebih aman bila dipilih menggunakan pelarut etanol. Temperatur ekstraksi yang semakin tinggi akan mempercepat laju perpindahan massa zat terlarut dari sampel buah stroberi ke pelarut yang digunakan, tetapi temperatur yang tinggi (diatas 60⁰C) akan mengakibatkan beberapa senyawa bioaktif terurai, sehingga semakin tinggi temperatur sampai 50⁰C, aktivitas antioksidan menurun.



Gambar 5. 1. Grafik IC₅₀ Pada Berbagai Temperatur dan Jenis Pelarut

Hasil uji LSD dengan variabel untuk jenis pelarut metanol, etanol dan air tidak ada perbedaan yang nyata. Hasil uji LSD dengan variabel temperatur menyatakan terdapat perbedaan nyata antara temperatur 30⁰ - 50⁰C dan 40⁰ - 50⁰C, sedangkan pada temperatur 30⁰ - 40⁰C tidak terdapat perbedaan yang nyata.

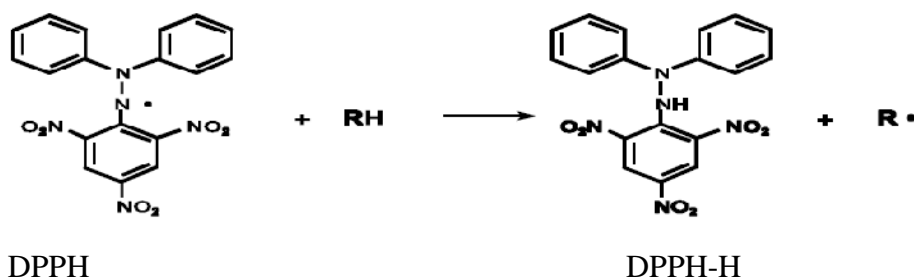
Tabel 5.2 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan IC₅₀

| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | Value | Prob > F | |
|------------------------|----------------|----|-------------|-------------|----------|------------------|
| Model | 502,0319 | 4 | 125,508 | 17,05306933 | 0.0089 | Signifikan |
| <i>A-Jenis Pelarut</i> | 69,69278 | 2 | 34,84639 | 4,73466262 | 0.0882 | Tidak Signifikan |
| <i>B-Temperatur</i> | 432,3391 | 2 | 216,1696 | 29,37147604 | 0.0041 | Signifikan |
| Residual | 29,43939 | 4 | 7,359847 | | | |
| Cor Total | 531,4713 | 8 | | | | |

5.2 Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah reaksi oksidasi (Halliwell dan Whitemann, 2004). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan berfungsi sebagai pemberi atom hidrogen pada radikal bebas, sehingga mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang stabil. Pada pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), antioksidan pada stroberi dapat mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas DPPH menjadi bentuk tereduksi yaitu *diphenyl-picrylhydrazine*, sehingga warna ungu pada DPPH berubah menjadi warna kuning (molyneux,2004). Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan vitamin C,

kadar fenolik total dan antosianin yang terdapat pada stroberi. Semakin kuat aktivitas antioksidan nilai IC_{50} akan semakin kecil.



Gambar 5.2 Reaksi penghambatan radikal DPPH (Molyneux, 2004)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak stroberi mempunyai nilai IC_{50} 20,6 ppm, pada kondisi ekstraksi F:S 1:15 dan temperatur 30°C. Menurut Blois antioksidan dengan nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm dinyatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat, nilai IC_{50} 50-100 ppm dinyatakan kuat, nilai IC_{50} 100-150 ppm mempunyai aktivitas tergolong sedang dan nilai IC_{50} 150-200 ppm mempunyai aktivitas yang lemah.

Tabel 5.3 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap IC_{50}

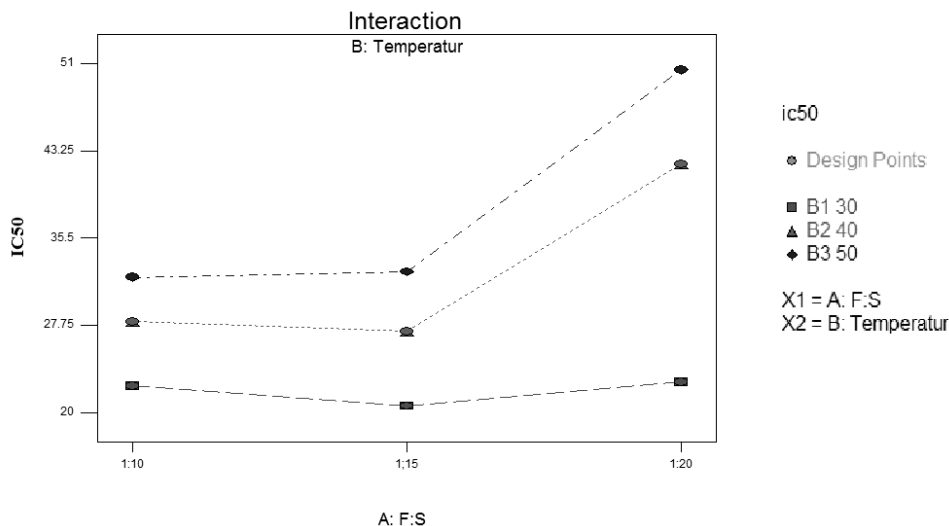
| Temperatur | F:S | IC_{50} (ppm) |
|------------|------|-----------------|
| 30 ° C | 1:10 | 22,40 |
| | 1:15 | 20,60 |
| | 1:20 | 22,75 |
| 40 ° C | 1:10 | 28,10 |
| | 1:15 | 27,23 |
| | 1:20 | 42,10 |
| 50 ° C | 1:10 | 32,01 |
| | 1:15 | 32,52 |
| | 1:20 | 50,48 |

Tabel 5.4 Tabel Analisa Rancangan Percobaan IC_{50} pada Berbagai Temperatur dan F:S

| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | Value | Prob > F | |
|---------------------|----------------|------|-------------|-------|----------|------------------|
| Model | 671,56 | 4,00 | 167,89 | 6,27 | 0.0515 | Tidak signifikan |
| <i>A-F:S</i> | 256,07 | 2,00 | 128,03 | 4,78 | 0.0869 | Tidak Signifikan |
| <i>B-Temperatur</i> | 415,49 | 2,00 | 207,75 | 7,76 | 0.0420 | Signifikan |
| Residual | 107,07 | 4,00 | 26,77 | | | |
| Cor Total | 778,63 | 8,00 | | | | |

Perhitungan dengan ANOVA menyatakan bahwa temperatur berpengaruh nyata terhadap perolehan IC_{50} , sedangkan F:S tidak berpengaruh nyata. Semakin tinggi

temperatur dari 30⁰C sampai 50⁰C, nilai IC₅₀ makin meningkat sedangkan aktivitas antioksidan menurun, temperatur yang tinggi akan mengakibatkan beberapa senyawa bioaktif terurai.

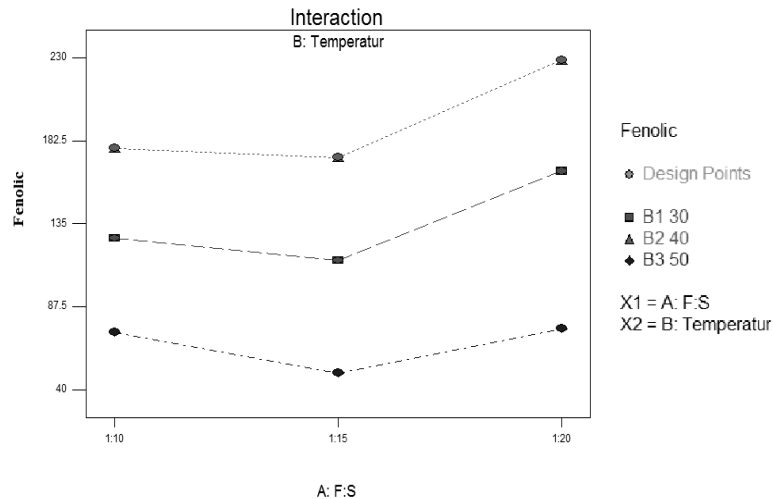


Gambar 5.3 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap IC₅₀

5.3 Kadar Fenolik Total

Senyawa fenolik adalah produk sekunder dari metabolisme tanaman. Salah satu karakteristik antioksidan alami ditentukan oleh kandungan fenol. Kandungan fenolik pada tanaman bervariasi tergantung pada faktor genetik dan lingkungan. Kepolaran pelarut merupakan salah satu faktor penting pada ekstraksi fenol dari bahan pangan. Ekstraksi senyawa fenol dengan etanol secara signifikan lebih tinggi dibanding ekstraksi dengan air (Ariviani, 2013). Penggunaan etanol murni dapat mengurangi efisiensi ekstraksi karena adanya polifenol yang mengandung beberapa gugus hidroksi (seperti flavonoid dan gula) yang bersifat hidrofil, pada umumnya lebih mudah larut dalam campuran etanol-air daripada etanol murni (Jokic, 2010).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kadar Fenolik tertinggi adalah 228,9 mg asam galat/100 g sampel, pada kondisi ekstraksi F:S 1:20 dan temperatur 40⁰C dengan pelarut etanol. Kenaikkan temperatur ekstraksi dapat meningkatkan laju difusi massa dan kelarutan ekstrak, sehingga kadar polifenol dalam ekstrak stroberi bertambah. Pada temperatur yang lebih tinggi senyawa bioaktif seperti polifenol dapat mengalami degradasi (Jokic, 2010).



Grafik 5.4 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap Kadar Fenolik

Perhitungan dengan ANOVA menyatakan bahwa temperatur berpengaruh nyata terhadap perolehan kadar fenolik, sedangkan F:S tidak berpengaruh nyata, pada temperatur 50°C kadar fenolik menurun.

Tabel 5.5 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Kadar Fenolik

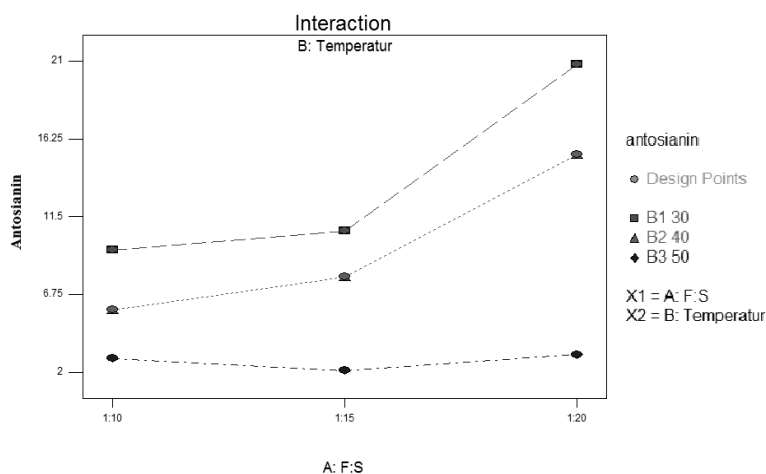
| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | Value | Prob > F | |
|--------------|----------------|----|-------------|-------|----------|------------------|
| Model | 27505,95 | 4 | 6876,49 | 41,49 | 0,0016 | Signifikan |
| A-F:S | 3057,27 | 2 | 1528,64 | 9,22 | 0,0318 | Tidak signifikan |
| B-Temperatur | 24448,67 | 2 | 12224,34 | 73,75 | 0,0007 | Signifikan |
| Residual | 662,98 | 4 | 165,74 | | | |
| Cor Total | 28168,93 | 8 | | | | |

5.4 Kadar Antosianin

Antosianin termasuk senyawa polifenol, merupakan antioksidan yang dapat memberikan atom hidrogen pada radikal bebas, kemampuannya sebagai antioksidan ditentukan oleh gugus hidroksi yang dapat berkonjugasi (Lapornik, 2004). Selain itu, merupakan pigmen alami yang memberikan warna pada buah stroberi. Komponen utama pada antosianin dalam stroberi adalah pelargonidin-3-glukosida. Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh temperatur dan pH, laju degradasi antosianin meningkat dengan kenaikan temperatur, degradasi termal dapat menyebabkan perubahan warna antosianin (Herrero, 2014).

Dari hasil perhitungan diperoleh kadar antosianin tertinggi adalah 20,8 mg/g sampel, pada kondisi ekstraksi F:S 1:20 dan temperatur 30°C. Pada temperatur yang lebih tinggi senyawa antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan dapat mengalami degradasi

sehingga gugus glikosil terurai membentuk keton, dengan demikian dapat menurunkan kemampuan untuk menangkal radikal bebas.



Grafik 5.5 Pengaruh F:S dan Temperatur Terhadap Perolehan Kadar Antosianin

Perhitungan dengan ANOVA menyatakan bahwa F:S tidak berpengaruh nyata dan temperatur berpengaruh nyata terhadap perolehan kadar antosianin. Semakin tinggi temperatur dari 30⁰C sampai 50⁰C, kadar antosianin menurun.

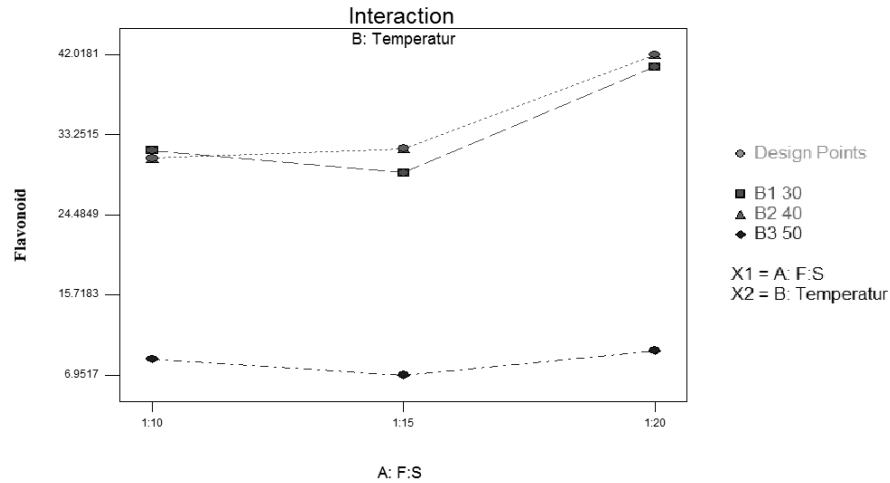
Tabel 5.6 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Kadar Antosianin

| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | Value | Prob > F | |
|--------------|----------------|----|-------------|-------|----------|------------------|
| Model | 273,17 | 4 | 68,29 | 6,84 | 0,0447 | Signifikan |
| A-F:S | 88,43 | 2 | 44,21 | 4,43 | 0,0968 | Tidak Signifikan |
| B-Temperatur | 184,74 | 2 | 92,37 | 9,25 | 0,0316 | Signifikan |
| Residual | 39,95 | 4 | 9,99 | | | |
| Cor Total | 313,12 | 8 | | | | |

5.5 Kadar Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon, mengandung 2 cincin fenil dan termasuk senyawa heterosiklik, terdapat pada sebagian besar tumbuhan sebagai pigmen yang memberi warna kuning, merah atau biru. Flavonoid dikelompokkan sebagai bioflavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid. Flavonoid yang umum dijumpai adalah antosianin, flavon dan flavonol. Flavonoid diketahui berfungsi sebagai antikarsinogenik, sebagai antioksidan, anti peradangan, anti alergi dan dapat menghambat oksidasi dari LDL (*low density lipoprotein*) (Bravo, 1998).

Hasil analisis menunjukkan flavonoid tertinggi adalah 93,3 mg *catechin*/100 g sampel, pada kondisi ekstraksi F:S 1:20 dan temperatur 40°C. Pada temperatur yang lebih tinggi gugus hidroksi dapat teroksidasi menjadi keton.



Grafik 5.6 Pengaruh Temperatur dan F:S dan Terhadap Kadar Flavonoid

Perhitungan dengan ANOVA menyatakan bahwa F:S tidak berpengaruh dan temperatur berpengaruh signifikan terhadap perolehan Kadar Flavonoid. Pada temperatur yang lebih tinggi yaitu 50°C kadar flavonoid menurun.

Tabel 5.7 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Kadar Flavonoid

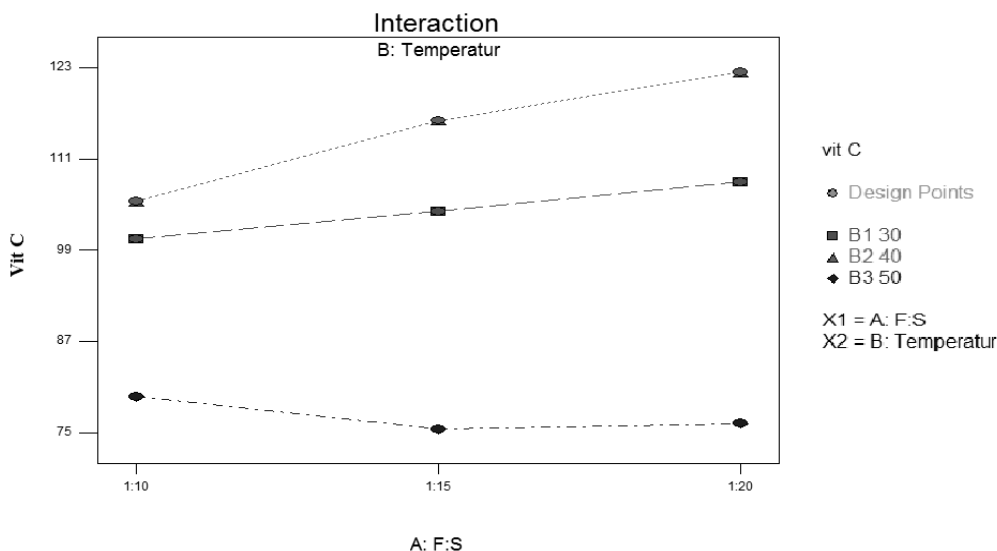
| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | Value | Prob > F | |
|---------------------|----------------|----|-------------|-------|----------|------------------|
| Model | 1458,06 | 4 | 364,51 | 38,73 | 0.0019 | Signifikan |
| <i>A-F:S</i> | 119,15 | 2 | 59,57 | 6,33 | 0.0576 | Tidak Signifikan |
| <i>B-Temperatur</i> | 1338,91 | 2 | 669,45 | 71,14 | 0.0007 | Signifikan |
| Residual | 37,64 | 4 | 9,41 | | | |
| Cor Total | 1495,70 | 8 | | | | |

5.6 Vitamin C

Kapasitas antioksidan dari suatu bahan dipengaruhi oleh komponen yang terdapat dalam bahan tersebut. Komponen antioksidan tersebut antara lain adalah vitamin C atau disebut asam askorbat. Vitamin C mempunyai peranan penting dalam metabolisme sel, dan dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi. Vitamin C berperan menghambat ROS (*radical oxygen species*) seperti O_2^- , H_2O_2 , HO, $ONOO^-$ (Hernandez, 2006).

Dari hasil analisis diperoleh kadar vitamin C tertinggi adalah 122,5 ppm, pada kondisi ekstraksi F:S 1:20 dan temperatur 40°C. Pada temperatur 50°C kadar vitamin C dalam stroberi berkurang. Peningkatan jumlah vitamin C dan fenolik terbukti berpengaruh

terhadap aktivitas penangkalan radikal bebas DPPH. Dari beberapa penelitian menyatakan bahwa kekuatan reduksi akan meningkat dengan meningkatnya kadar fenolik dan vitamin C (Ariviani, 2013).



Grafik 5.7 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap kadar vitamin C

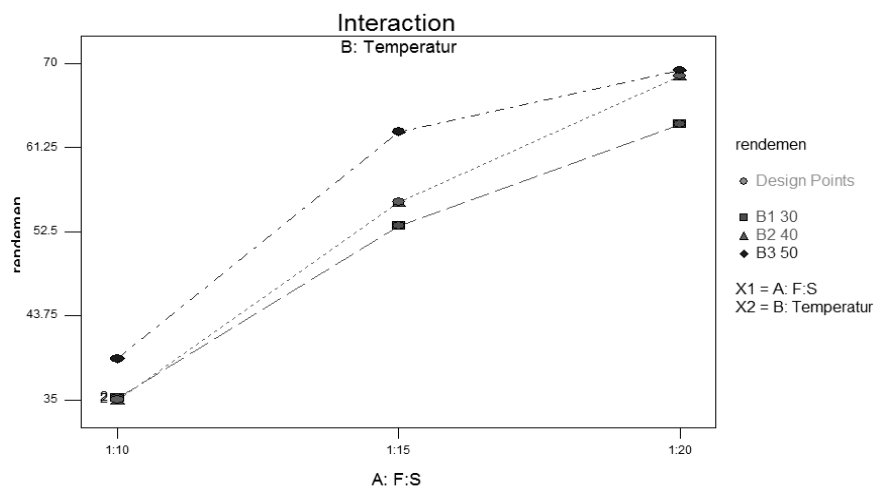
Perhitungan ANOVA menyatakan bahwa temperatur berpengaruh nyata dan F:S tidak berpengaruh nyata terhadap perolehan kadar vitamin C. Pada temperatur yang tinggi Semakin tinggi temperatur dari 30⁰C sampai 50⁰C, kadar vitamin C menurun.

Tabel 5.8 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Kadar Vitamin C

| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | Value | Prob > F | |
|--------------|----------------|----|-------------|-------|----------|------------------|
| Model | 2317,20 | 4 | 579,30 | 20,50 | 0,0063 | Signifikan |
| A-F:S | 73,08 | 2 | 36,54 | 1,29 | 0,3689 | Tidak Signifikan |
| B-Temperatur | 2244,12 | 2 | 1122,06 | 39,70 | 0,0023 | Signifikan |
| Residual | 113,05 | 4 | 28,26 | | | |
| Cor Total | 2430,25 | 8 | | | | |

5.7 Rendemen

Dari hasil ekstraksi stroberi diperoleh rendemen tertinggi adalah 69,3 % pada kondisi ekstraksi F:S 1:20 dan temperatur 50⁰C. Hasil perhitungan dengan ANOVA menunjukkan bahwa Temperatur dan perbandingan umpan pelarut berpengaruh signifikan terhadap rendemen.



Grafik 5.8 Pengaruh Temperatur dan F:S Terhadap perolehan rendemen

Tabel 5.9 Tabel Analisa Varian Rancangan Percobaan Rendemen

| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | Value | Prob > F | |
|---------------------|----------------|----|-------------|----------|----------|------------|
| Model | 1538,404 | 4 | 384,6011 | 86,24418 | 0.0004 | signifikan |
| <i>A-F:S</i> | 1473,696 | 2 | 736,8478 | 165,2331 | 0.0001 | signifikan |
| <i>B-Temperatur</i> | 64,70889 | 2 | 32,35444 | 7,255263 | 0.0467 | signifikan |
| Residual | 17,83778 | 4 | 4,459444 | | | |
| Cor Total | 1556,242 | 8 | | | | |

5.8 Uji Senyawa Fitokimia

Analisa kualitatif senyawa fitokimia pada buah stroberi menunjukkan bahwa ekstrak stroberi memberikan uji positif terhadap komponen antosianin, fenolik, flavonoid, vitamin C dan terpenoid.

Tabel 5.10 Uji Fitokimia

| Senyawa | Hasil Uji |
|------------|-----------|
| Fenol | + |
| Flavonoid | + |
| Antosianin | + |
| Terpenoid | + |

BAB VI

KESIMPULAN

Stroberi mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat menangkal radikal DPPH, Ekstrak stroberi mempunyai aktivitas tertinggi dengan IC_{50} sebesar 20,6 ppm pada temperatur $30^{\circ}C$ dengan pelarut etanol, merupakan antioksidan yang sangat kuat, aktivitas tersebut dipengaruhi oleh temperatur ekstraksi.

Stroberi mengandung senyawa bioaktif antosianin, fenolik, flavonoid, vitamin C dan terpenoid. Kadar antosianin tertinggi adalah 20,8 mg/g sampel pada temperatur $30^{\circ}C$ dan F:S 1:20. Hasil perhitungan dengan ANOVA menunjukkan bahwa temperatur berpengaruh signifikan terhadap IC_{50} , kadar fenol, flavonoid, antosianin dan vitamin C, sedangkan F:S tidak berpengaruh. Rendemen yang diperoleh adalah 69,3% pada temperatur $50^{\circ}C$ dengan pelarut etanol pada F:S 1:20.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, Ø. M. dan K. Bernard, 2001. *Chemistry, Analysis and Application of Anthocyanin Pigments from Flowers, Fruits, and Vegetables*.
- Anggi Pratama, 2009. *Aplikasi LabVIEW Sebagai Pengukur Kadar Vitamin C Dalam Larutan Menggunakan Metode Titrasi Iodometri*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Bertuglia S, et al., 1995. *Effect of Vaccinium myrtillus anthocyanosides on ischemia reperfusion injury in hamster cheek pouch microcirculation*. Pharmacol Res.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by use of a stable free radical, Nature, 181:1199-1200.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutr Rev 56:317-333.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug Anal 10:178-182.
- Coulson, J.M., Richardson, J.F., Backhurst, J.R., Harker, J.H., 1999, Fluid Flow, Heat Transfer and Mass Transfer, Elsevier : 6th edition.
- Francesca Giampieri D.Sc, et all., 2012. *The strawberry : Composition, nutritional quality and impact on human health*.
- Franco Van De Velde, Anna M. Tarola, Daniel Güemes, Maria E. Pirovani, 2013. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of *Camarosa* and *Selva* (*Fragaria x ananassa* Duch.), *Foods*, 2, pp. 120-131.
- Geankoplis, Christie., 2004. *Transport Process and Separation Principles*. NJ: Prentice Hall. Pp. 802-817.
- Halliwel B, Aeschbach R., Lolinger J, Auroma O I., 1995. *Toxicology*. "J Food Chem" 33:601.
- Houghton, J.D., G.A.F. Hendry., 1995. *Natural food colorants*. Springer. ISBN 978-0-7514-023205. Page 53-59.

- Hernandez-Herrero, J.A., Frutos, M.J., 2014. Colour and Antioxidant Capacity Stability in Grape, Strawberry and Plum Peel at Different pH and Temperatures. *Journal of Food Chemistry*. 154 : 199-204.
- Hernandez, Y., Lobo, M.G. dan Gonzalez, M., 2006. Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. *Journal of Food Chemistry* 96: 654-664.
- Jokic, S., Velic, D., *et all.* 2010. Modelling of The Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *Journal of Food Science*. 28(3) : 206-212.
- Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF., 2003. Brouillard R Phytochemistry.
- Lapornik, B., Prosek, M. and Golc Wondra, A., 2005. Comparison of extract prepared from plant by-products using differnt solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. 71 : 214-222.
- Lauro, G.J. and Francis, F. J. (Eds) *Natural Food colours*, Science and technology. IFT Basic Symposium Series 14, Marcel Dekker, 2000.
- Linnon Bastian Lumbanraja, 2009, *Skrining Fitokimia dan Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sonchus arvensis L.) Terhadap Radang Pada Tikus*, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Lopes da Silva, F., Teresa Escribano-Bailon, M., Joaquin Perz Alonso, J., Rivas-Gonzalo, J.C., Santos-Buelga, C., 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. *J. LWT*. 40 : 374-382.
- Marcia da Silva Pinto, Franco Maria Lajolo, Maria Inés Genovese. 2007. *Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberry*.
- Mark Percival., 1998. *Antioxidant*. Clinical Nutrition Insights.
- Molyneux, P., 2004. The use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*. 26(2) : 211-219.
- Nurdianti, Devi. 2010. Penentuan aktivitas antioksidan produk olahan berbahan dasar buah beri (Stroberi, blueberi, mulberi), Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.
- Sabri Sudirman., 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (*Ipomoea aquatic* Forsk.). IPB.

- Schuler P., 1990. Natural Antioxidant Exploited Commercially. Di dalam : "Food Antioxidants". Husdant BJJ, editor. New York : Elsevier Applied Science.
- Setianingrum Ariviani dan Nur Her Riyadi Parnanto., 2013. Kapasitas Antioksidan Buah Salak Serta Korelasinya dengan Kadar Fenolik Total dan Vitamin C. Jurnal Agritech 33(3): 324-333.
- Sherry Kao, Ming-Wei. 2006. A Comparative Study of Antioxidant and Physicochemical Properties of Blackberry and Kiwifruit. Auburn, Alabama.
- Sutharut, J. And Sudarat, J. 2012. Total anthocyanin and antioxidant activity of germinated colored rice. International Food Research Journal. 19(1): 215-221.
- Ya Luo, et all., 2011. Antioxidant properties and involved antioxidant compounds of strawberry fruit at different maturity stages.
- Wenzig, E.M., Widowitz, U., Kunert, O., Chrubasik, S., Bucar, F., Knauder, E. And Bauer, R., 2008. Phytochemical composition and *in vitro* pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations. *J. Phytomedicine*. 15 : 826-835.

LAMPIRAN A

PROSEDUR KERJA DAN ANALISIS

A.1. Analisis Kadar Air

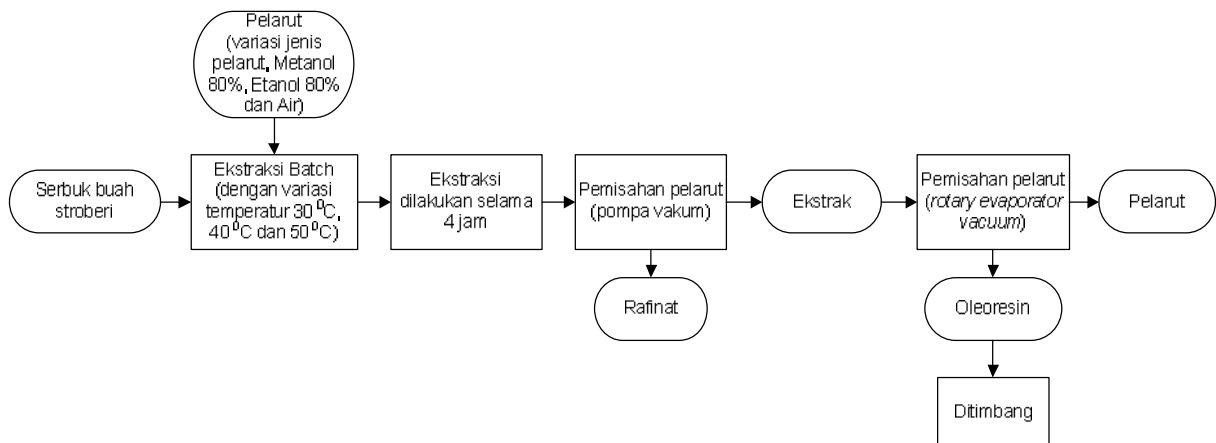
Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air pada sampel buah stroberi, analisa dilakukan dengan alat moisture analyzer. Satu gram serbuk buah stroberi ditimbang dan dimasukkan dalam cawan, kadar air dapat dibaca pada layar alat *moisture analyzer*.

A.2. Penentuan waktu ekstraksi

Penentuan waktu ekstraksi dilakukan untuk menentukan berapa lama proses ekstraksi antioksidan buah stroberi berlangsung, dimana konsentrasi solut sudah pindah ke pelarut. Serbuk stroberi diekstraksi secara batch dengan menggunakan pelarut etanol, setiap 30 menit sampel diambil sebanyak ± 2 mL untuk diukur absorbannya, ekstraksi dilakukan sampai nilai absorban sampel telah konstan sebanyak tiga kali.

A.3. Penentuan jenis pelarut

Ekstraksi dilakukan dengan variasi jenis pelarut metanol 80%, air dan etanol 80% pada temperatur 30 °C, 40 °C dan 50 °C dengan F:S 1:20, waktu ekstraksi 3 jam. Ekstrak dipisahkan dari pelarut menggunakan pompa vakum, dilanjutkan dengan *rotary evaporator*, untuk mendapatkan ekstrak pekat/*oleoresin*. Tahapan percobaan dapat dilihat pada gambar A.1.



Gambar A.1 Diagram Ekstraksi (Penentuan Jenis Pelarut)

A.4. Persiapan larutan DPPH dan penentuan panjang gelombang maksimum

- Larutan DPPH 0,1 mM dibuat dengan melarutkan 3,94 mg DPPH dengan metanol sampai 100 mL.
- Larutan DPPH diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 – 530 nm untuk penentuan panjang gelombang maksimum
- Panjang gelombang maksimum diperoleh saat nilai % T paling minimum

A.4. Analisa aktivitas antioksidan (Blois, 2005)

Ekstrak stroberi hasil evaporasi ditimbang dan dilarutkan dengan metanol menjadi 5.000 ppm. Selanjutnya diencerkan masing-masing menjadi 2.500, 1.250, 500 dan 250 ppm untuk membuat kurva IC_{50} dari aktivitas antioksidan. Masing-masing larutan ekstrak direaksikan dengan DPPH 0,1 mM pada perbandingan volum 1: 1, didiamkan selama 30 menit di ruang gelap, dan absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum. Berikut adalah langkah langkah pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH:

A.4.1 Membuat ekstrak stroberi dengan kadar 5.000 ppm

- Timbang 0,05 gram ekstrak stroberi dilarutkan dengan metanol dan diencerkan sampai 10 ml, dari 10 ml ini dipipet 2 ml untuk direaksikan dengan 2 ml DPPH (1:1)
- Membuat larutan standar 2.500, 1.250, 500, 250 ppm
- Siapkan labu ukur 10 ml, dari larutan standar 5.000 ppm dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian diencerkan sampai 10 ml dengan metanol (memiliki konsentrasi 2.500 ppm).
- Siapkan labu ukur 10 ml, dari larutan standar 2.500 ppm dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian diencerkan sampai 10 ml dengan metanol (memiliki konsentrasi 1.250 ppm).
- Siapkan labu ukur 10 ml, dari larutan standar 1.250 ppm dipipet sebanyak 4 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian diencerkan sampai 10 ml dengan metanol (memiliki konsentrasi 500 ppm).
- Siapkan labu ukur 10 ml, dari larutan standar 500 ppm dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian diencerkan sampai 10 ml dengan metanol (memiliki konsentrasi 250 ppm).

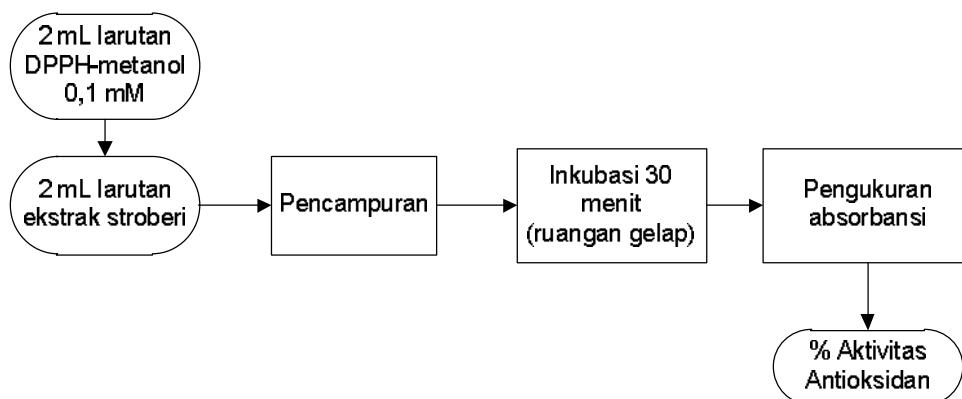
- Dari masing-masing larutan ekstrak 5000, 2500, 1250, 500 dan 250 ppm dipipet 2 ml direaksikan dengan 2 ml DPPH 0,1 mM. Kemudian disimpan dengan temperatur 30 °C dalam keadaan gelap selama 30 menit.
- Absorbansi diukur terhadap blanko metanol pada panjang gelombang 517 nm.

A.4.2 Penentuan aktivitas antioksidan dan IC 50

- Masing-masing larutan ekstrak yang telah direaksikan dengan DPPH 0,1 mM diukur absorbansinya dan dihitung % aktivitas antioksidan dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(A_{DPPH\ 0,1\ mM} - A(\text{larutan ekstrak} + DPPH\ 0,1\ mM))}{A_{DPPH\ 0,1\ mM}}$$

- Nilai % Aktivitas antioksidan dialurkan terhadap konsentrasi larutan ekstrak diperoleh kurva IC₅₀, kemudian dibuat kurva dengan persamaan logaritmik
- Nilai IC₅₀ dihitung dengan mensubstitusi angka 50 (pada ordinat) kedalam persamaan regresi kurva IC₅₀ sehingga diperoleh nilai IC₅₀ (pada absis).



Gambar A.2 Diagram Penentuan Aktivitas Antioksidan

A.5. Kadar Fenolik Total

Kadar fenolik total diukur dengan menggunakan prinsip Folin-Ciocalteu yang didasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi. Reagen Folin terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat akan tereduksi oleh senyawa polifenol menjadi molibdenum-tungsten.

Pengukuran total fenol dilakukan dengan membandingkan fenol yang ada dalam bahan dengan kurva standar fenol yang dibuat dari asam galat.

- 0,2 mL ekstrak (5000 ppm) ditambahkan dengan 2,6 mL akuades
- 0,2 mL reagen Folin-Ciocalteu diencerkan dengan akuades (FCR=1:5)
- Reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan kedalam ekstrak dan didiamkan selama 6 menit

- Ditambahkan 2 mL larutan 7% Na_2CO_3 dan didiamkan selama 90 menit sehingga warna larutan berubah menjadi biru
- Absorbansi larutan diukur pada 725 nm
- Kadar fenolik dihitung dengan persamaan kurva standar catechin $y=0,004 x + 0,01$ dengan interpolasi nilai absorbansi pada ordinat

A.6 Penentuan kadar flavonoid (Kao, 2006)

Metode analisis flavonoid total yang diukur merupakan golongan flavon dan flavonol yang terdapat pada ekstrak, kedua kelompok ini yang mampu membentuk kompleks stabil dengan AlCl_3 (Chang et al. 2002). Pengukuran kandungan flavonoid total dari ekstrak kiwi dilakukan dengan metode pewarnaan AlCl_3 . Kadar flavonoid secara kuantitatif didapat dari kurva standar *catechin* pada panjang gelombang 510 nm.

- 1 ml ekstrak (5000 ppm) ditambahkan dengan 0,3 ml NaNO_2 5%, didiamkan selama 5 menit
- Setelah didiamkan 5 menit ditambahkan 0,3 ml $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 %
- Ditambahkan 2 ml NaOH 1M, ditunggu selama 1 menit
- Setelah 1 menit diencerkan dengan 2,4 ml akuades dan diaduk selama 30 detik sehingga warna larutan berubah menjadi merah
- Larutan diukur % T pada 510 nm dengan blanko akuades
- Kadar flavonoid dihitung dengan persamaan kurva standar catechin $y= 0,0053 x + 0,0075$ dengan interpolasi nilai absorbansi pada ordinat

A.7 Penentuan Kadar Antosianin

- 2ml ekstrak (5000 ppm) dimasukkan masing-masing kedalam 2 labu ukur.
- Labu ukur pertama ditambahkan dengan buffer potassium klorida pH 1 sampai volume 10 ml, labu ukur kedua ditambahkan dengan buffer sodium asetat pH 4,5 sampai volum 10 ml.
- Campuran didiamkan selama 15 menit
- Diukur %T pada $\lambda=510\text{nm}$ dan $\lambda=700\text{nm}$ dengan blanko akuades.

$$A = (A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 1 - (A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 4,5$$

$$\text{Kadar antosianin (mg/L)} = A \times 449,2 \times \text{DF} \times 1000 / 26900$$

A.8 Penentuan Kadar Vitamin C

Pengujian kadar vitamin C, 0,05 gram ekstrak stroberi diencerkan dengan air sampai 10 mL (5000 ppm). Kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ 3 M sebanyak 2 mL dan larutan iodin 0,1 M sebanyak 1 mL, warna larutan akan menjadi kuning. Selanjutnya ditambahkan 10 tetes larutan amilum 0,1% sebagai indikator, warna larutan berubah menjadi biru. Selanjutnya dititrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M sampai warna berubah menjadi kuning. Untuk menghitung kadar vitamin C digunakan rumus sebagai berikut,

$$\text{Kadar Vitamin C} = \frac{V \text{ natrium tiosulfat} - V \text{ blanko}}{\text{massa sampel}} \times 8,08$$

A.9 Uji fitokimia

Tujuan dari uji fitokimia adalah untuk mengetahui secara kualitatif komponen-komponen tannin, antosianin, terpenoid, dan flavonoid yang terdapat pada ekstrak buah stroberi.

A.9.1 Uji tannin

- Ekstrak stroberi dengan konsentrasi 5000 ppm ditetesi dengan 1 tetes FeCl₃ 5 %
- Dilihat perubahan warna yang terjadi diandingkan dengan pereaksi

Keterangan:

positif +

positif kuat ++

positif sangat kuat +++

A.9.2 Uji Antosianin

- Ekstrak stroberi dengan konsentrasi 5000 ppm ditetesi dengan 1 tetes HCL pekat
- Dilihat perubahan warna merah yang terjadi diandingkan dengan pereaksi

A.9.3 Uji Terpenoid

- Ekstrak stroberi dengan konsentrasi 5000 ppm ditambahkan 2 mL asam asetat anhidrida
- Sampel ditetesi 1-2 tetes H₂SO₄ pekat
- Dilihat perubahan warna merah yang terjadi diandingkan dengan pereaksi

A.9.4 Uji flavonoid

1. Ekstrak stroberi dengan konsentrasi 5000 ppm ditambahkan 2 serbuk Mg
2. Sampel ditetesi 1-2 tetes HCL pekat
3. Dilihat perubahan warna merah yang terjadi diandingkan dengan pereaksi

LAMPIRAN B

DATA DAN HASIL PENELITIAN

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH 0,1 mM

| Panjang gelombang (nm) | %T | Absorbansi |
|------------------------|------|------------|
| 500 | 17,5 | 0,757 |
| 505 | 16,0 | 0,796 |
| 510 | 14,9 | 0,827 |
| 515 | 14,3 | 0,845 |
| 517 | 14,2 | 0,873 |
| 520 | 14,3 | 0,845 |
| 525 | 14,9 | 0,827 |
| 530 | 16,2 | 0,790 |

2. Penentuan Waktu Ekstraksi

| Waktu (menit) | Absorbansi |
|---------------|------------|
| 30 | 0,213 |
| 60 | 0,237 |
| 90 | 0,374 |
| 120 | 0,376 |
| 150 | 0,430 |
| 180 | 0,463 |
| 210 | 0,466 |
| 240 | 0,470 |
| 270 | 0,470 |
| 300 | 0,470 |

3. Hasil IC₅₀ pada berbagai Temperatur dan Jenis Pelarut

| Temperatur | IC ₅₀ (ppm) | | |
|------------|------------------------|--------|-------|
| | Metanol | Etanol | Air |
| 30 °C | 53,53 | 57,59 | 64,97 |
| 40 °C | 54,67 | 58,09 | 62,12 |
| 50 °C | 69,73 | 73,29 | 74,56 |

4. Aktivitas Antioksidan Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak

Pelarut etanol, F:S=1:10, temperatur 30°C

| C (ppm) | % Transmitan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|--------------|------|------------------|----------------|----------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 89,5 | 90,6 | 90,05 | 0,05 | 94,63 |
| 2500 | 74,3 | 78,6 | 76,45 | 0,12 | 86,24 |
| 1250 | 64,4 | 64,6 | 64,50 | 0,19 | 77,53 |
| 500 | 60,0 | 62,0 | 61,00 | 0,21 | 75,23 |
| 250 | 55,34 | 55,9 | 55,67 | 0,25 | 70,07 |

Pelarut etanol, F:S=1:15, temperatur 30°C

| C (ppm) | % Transmitan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|--------------|------|------------------|----------------|----------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 89,8 | 90,3 | 90,05 | 0,05 | 94,63 |
| 2500 | 83,3 | 80,6 | 81,95 | 0,09 | 89,80 |
| 1250 | 77,6 | 75,1 | 76,35 | 0,12 | 86,18 |
| 500 | 69 | 68 | 68,50 | 0,16 | 80,62 |
| 250 | 56,2 | 54,4 | 55,30 | 0,26 | 69,65 |

Pelarut etanol, F:S=1:20, temperatur 30°C

| C (ppm) | % Transmitan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|--------------|------|------------------|----------------|----------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 89,7 | 90,2 | 89,95 | 0,05 | 94,57 |
| 2500 | 83,0 | 81,1 | 82,05 | 0,09 | 89,86 |
| 1250 | 79,2 | 80,3 | 79,75 | 0,10 | 88,41 |
| 500 | 61,8 | 62 | 61,90 | 0,21 | 75,43 |
| 250 | 57,6 | 52,8 | 55,20 | 0,26 | 69,56 |

Pelarut etanol, F:S=1:10, temperatur 40°C

| C (ppm) | % Transmitan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|--------------|------|---------------|-------------|-------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 91,2 | 90,9 | 91,05 | 0,04 | 95,20 |
| 2500 | 84,4 | 86,1 | 85,25 | 0,07 | 91,82 |
| 1250 | 77,9 | 79,0 | 78,45 | 0,11 | 87,57 |
| 500 | 68,8 | 68,5 | 68,65 | 0,16 | 80,73 |
| 250 | 59,1 | 53,4 | 56,25 | 0,25 | 70,52 |

Pelarut etanol, F:S=1:15, temperatur 40°C

| C (ppm) | % Tranmitan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|-------------|------|---------------|-------------|-------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 90,1 | 89,9 | 90,00 | 0,05 | 94,60 |
| 2500 | 85,5 | 85,7 | 85,60 | 0,07 | 92,03 |
| 1250 | 70,7 | 71,1 | 70,90 | 0,15 | 82,38 |
| 500 | 67,2 | 66,2 | 66,70 | 0,18 | 79,25 |
| 250 | 52,8 | 52,6 | 52,70 | 0,28 | 67,18 |

Pelarut etanol, F:S=1:20, temperatur 40°C

| C (ppm) | % Transmitan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|--------------|------|---------------|-------------|-------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 88,8 | 86,0 | 87,40 | 0,06 | 93,10 |
| 2500 | 78,1 | 78,9 | 78,50 | 0,11 | 87,60 |
| 1250 | 66,1 | 68,9 | 67,50 | 0,17 | 79,86 |
| 500 | 59,3 | 62,6 | 60,95 | 0,22 | 74,63 |
| 250 | 53,1 | 47,7 | 50,40 | 0,30 | 64,90 |

Pelarut etanol, F:S=1:10, temperatur 50°C

| C (ppm) | % T1 | % T2 | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|------|------|---------------|-------------|-------------------------|
| 5000 | 96,2 | 96,4 | 96,30 | 0,02 | 98,07 |
| 2500 | 85,3 | 86,0 | 85,65 | 0,07 | 92,06 |
| 1250 | 73,8 | 73,6 | 73,70 | 0,13 | 84,37 |
| 500 | 69,3 | 69,2 | 69,25 | 0,16 | 81,18 |
| 250 | 52,6 | 51,7 | 52,15 | 0,28 | 66,65 |

Pelarut etanol, F:S=1:15, temperatur 50°C

| C (ppm) | % Transmittan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|---------------|------|------------------|----------------|----------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 94,5 | 94,7 | 94,60 | 0,02 | 97,16 |
| 2500 | 82,3 | 87,4 | 84,85 | 0,07 | 91,58 |
| 1250 | 70,3 | 70,4 | 70,35 | 0,15 | 81,98 |
| 500 | 66,0 | 65,6 | 65,80 | 0,18 | 78,56 |
| 250 | 52,4 | 54,2 | 53,30 | 0,27 | 67,76 |

Pelarut etanol, F:S=1:20, temperatur 50°C

| C (ppm) | % Transmittan | | % T rata-rata | A rata-rata | % aktivitas antioksidan |
|---------|---------------|------|------------------|----------------|----------------------------|
| | 1 | 2 | | | |
| 5000 | 99,3 | 92,7 | 96,00 | 0,02 | 97,91 |
| 2500 | 86,9 | 89,2 | 88,05 | 0,06 | 93,48 |
| 1250 | 74,8 | 75,6 | 75,20 | 0,12 | 85,40 |
| 500 | 60,5 | 62,6 | 61,55 | 0,21 | 75,14 |
| 250 | 50,9 | 52,6 | 51,75 | 0,29 | 66,25 |

5. Pengaruh Temperatur dan F:S terhadap perolehan IC₅₀

| Temperatur | F:S | Persamaan garis aktivitas antioksidan | IC ₅₀ (ppm) |
|------------|------|--|------------------------|
| 30 °C | 1:10 | $y = 7.820\ln(x) + 25.66$ | 22,40 |
| | 1:15 | $y = 7.774\ln(x) + 29.43$ | 20,60 |
| | 1:20 | $y = 8.568\ln(x) + 23.23$ | 22,75 |
| 40 °C | 1:10 | $y = 7.968\ln(x) + 29.06$ | 28,10 |
| | 1:15 | $y = 8.852\ln(x) + 20.75$ | 27,23 |
| | 1:20 | $y = 9.091\ln(x) + 16.00$ | 42,10 |
| 50 °C | 1:10 | $y = 9.636\ln(x) + 16.60$ | 32,01 |
| | 1:15 | $y = 9.383\ln(x) + 17.33$ | 32,52 |
| | 1:20 | $y = 10.76\ln(x) + 7.804$ | 50,48 |

6. Data kadar fenolik

| Temperatur | F:S | % Transmittan | | %Trata | Arata | Kadar Fenolik (mg asam galat/100 gram sampel) |
|------------|------|---------------|------|--------|-------|--|
| | | 1 | 2 | | | |
| 30 °C | 1:10 | 33,0 | 26,4 | 29,7 | 0,527 | 126,8 |
| | 1:15 | 33,1 | 33,7 | 33,4 | 0,476 | 114,1 |
| | 1:20 | 22,8 | 18,9 | 20,85 | 0,681 | 165,2 |
| 40 °C | 1:10 | 22,2 | 14,8 | 18,5 | 0,733 | 178,2 |
| | 1:15 | 18,8 | 20,0 | 19,4 | 0,712 | 173,0 |
| | 1:20 | 11,8 | 11,4 | 11,6 | 0,936 | 228,9 |
| 50 °C | 1:10 | 49,2 | 48,3 | 48,75 | 0,312 | 73,0 |
| | 1:15 | 67,1 | 53,8 | 60,45 | 0,219 | 49,7 |
| | 1:20 | 49,9 | 45,8 | 47,85 | 0,320 | 75,0 |

7. Data kadar flavonoid

| Temperatur | F:S | % Transmittan | | %Trata | Arata | Kadar Flavonoid (mg katekin / 100 g sampel) |
|------------|------|---------------|------|--------|-------|--|
| | | 1 | 2 | | | |
| 30 °C | 1:10 | 66,7 | 67,3 | 67,0 | 0,174 | 31,5 |
| | 1:15 | 68,6 | 69,2 | 68,9 | 0,162 | 29,1 |
| | 1:20 | 59,5 | 60,1 | 59,8 | 0,223 | 40,7 |
| 40 °C | 1:10 | 67,4 | 67,8 | 67,6 | 0,170 | 30,7 |
| | 1:15 | 66,5 | 66,9 | 66,7 | 0,176 | 31,8 |
| | 1:20 | 58,5 | 59,3 | 58,9 | 0,230 | 42,0 |
| 50 °C | 1:10 | 88,0 | 88,6 | 88,3 | 0,054 | 8,7 |
| | 1:15 | 90,0 | 90,4 | 90,2 | 0,045 | 7,0 |
| | 1:20 | 86,9 | 87,7 | 87,3 | 0,059 | 9,7 |

8. Data kadar antosianin

Tabel data absorbansi larutan sampel (buffer pH 1 dan pH 4,5) pada berbagai kondisi temperatur dan F:S.

| F:S | 1:10 | | | | 1:15 | | | | 1:20 | | | |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| λ | 510 nm | | 700 nm | | 510 nm | | 700 nm | | 510 nm | | 700 nm | |
| Buffer | pH 1 | pH 4,5 | pH 1 | pH 4,5 | pH 1 | pH 4,5 | pH 1 | pH 4,5 | pH 1 | pH 4,5 | pH 1 | pH 4,5 |
| 30 ^o C | 0,674 | 0,396 | 0,369 | 0,204 | 0,562 | 0,277 | 0,271 | 0,114 | 0,863 | 0,602 | 0,325 | 0,313 |
| 40 ^o C | 0,547 | 0,350 | 0,292 | 0,164 | 0,827 | 0,708 | 0,415 | 0,389 | 0,848 | 0,623 | 0,372 | 0,331 |
| 50 ^o C | 0,086 | 0,034 | 0,028 | 0,010 | 0,081 | 0,035 | 0,030 | 0,009 | 0,122 | 0,054 | 0,052 | 0,020 |

| Absorbansi | F:S | | |
|-------------------|-------|-------|-------|
| | 1:10 | 1:15 | 1:20 |
| 30 ^o C | 0,113 | 0,128 | 0,249 |
| 40 ^o C | 0,070 | 0,094 | 0,183 |
| 50 ^o C | 0,034 | 0,025 | 0,037 |

| Kadar antosianin (mg/L) | F:S | | |
|----------------------------|------|-------|-------|
| | 1:10 | 1:15 | 1:20 |
| 30 ^o C | 9,47 | 10,65 | 20,83 |
| 40 ^o C | 5,82 | 7,84 | 15,31 |
| 50 ^o C | 2,86 | 2,11 | 3,08 |

9. Data kadar vitamin C

| Temperatur | F:S | massa sampel (gram) | | V tiosulfat (mL) | | Kadar vitamin C (ppm) | | Kadar vit C (ppm) |
|------------|------|---------------------|--------|------------------|------|-----------------------|--------|-------------------|
| | | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | |
| 30 °C | 1:10 | 0,0523 | 0,0522 | 1,20 | 1,30 | 92,70 | 108,35 | 100,52 |
| | 1:15 | 0,0500 | 0,0510 | 1,30 | 1,20 | 113,12 | 95,06 | 104,09 |
| | 1:20 | 0,0522 | 0,0525 | 1,20 | 1,40 | 92,87 | 123,12 | 108,00 |
| 40 °C | 1:10 | 0,0531 | 0,0542 | 1,30 | 1,30 | 106,52 | 104,35 | 105,44 |
| | 1:15 | 0,0527 | 0,0518 | 1,30 | 1,40 | 107,32 | 124,79 | 116,06 |
| | 1:20 | 0,0533 | 0,0524 | 1,30 | 1,50 | 106,12 | 138,78 | 122,45 |
| 50 °C | 1:10 | 0,0513 | 0,0520 | 1,10 | 1,12 | 78,75 | 80,80 | 79,78 |
| | 1:15 | 0,0534 | 0,0536 | 1,10 | 1,10 | 75,66 | 75,37 | 75,51 |
| | 1:20 | 0,0541 | 0,0523 | 1,00 | 1,20 | 59,74 | 92,70 | 76,22 |

10. Data perolehan rendemen

| Temperatur | F:S | Massa stroberi (gram) | Massa ekstrak (gram) | Rendemen (%) |
|------------|------|-----------------------|----------------------|--------------|
| 30 °C | 1:10 | 15,0 | 5,29 | 35,2 |
| | 1:15 | 10,0 | 5,31 | 53,1 |
| | 1:20 | 7,5 | 4,78 | 63,7 |
| 40 °C | 1:10 | 15,0 | 5,89 | 35,0 |
| | 1:15 | 10,0 | 5,56 | 55,6 |
| | 1:20 | 7,5 | 5,20 | 68,7 |
| 50 °C | 1:10 | 15,0 | 5,25 | 39,3 |
| | 1:15 | 10,0 | 6,29 | 62,9 |
| | 1:20 | 7,5 | 5,15 | 69,3 |

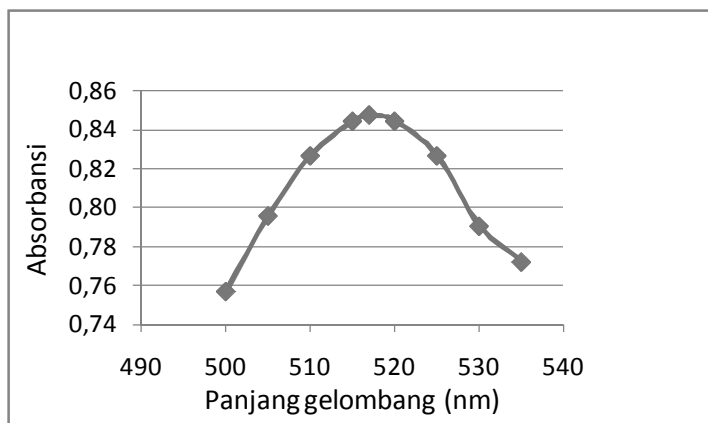
11. Uji Fitokimia

| Senyawa | Hasil uji kualitatif |
|------------|----------------------|
| Fenol | + |
| Flavonoid | + |
| Antosianin | + |
| Terpenoid | + |

LAMPIRAN C

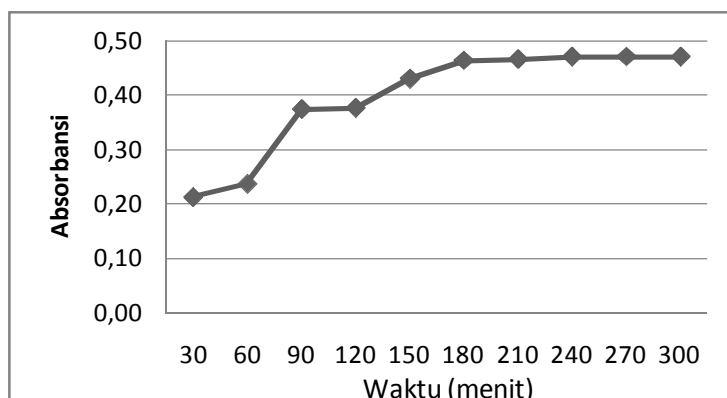
GRAFIK

1. Grafik Absorbansi DPPH 0,1 mM terhadap Panjang Gelombang



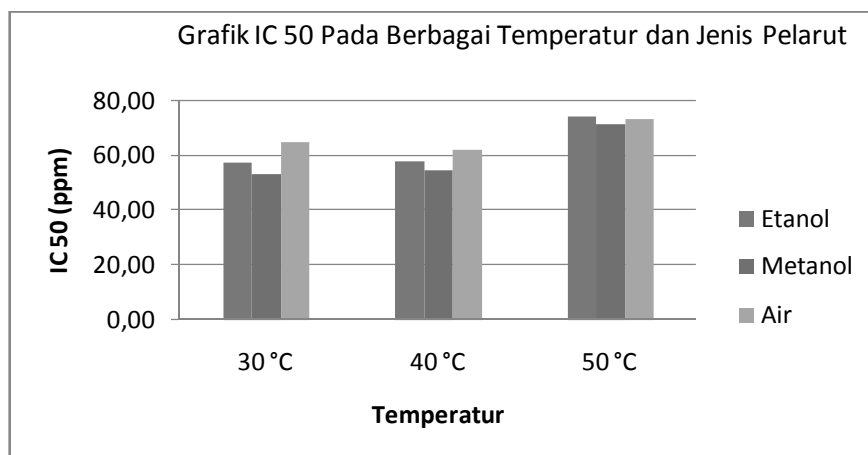
Grafik 1. Absorbansi terhadap panjang gelombang

2. Grafik Penentuan Waktu Ekstraksi

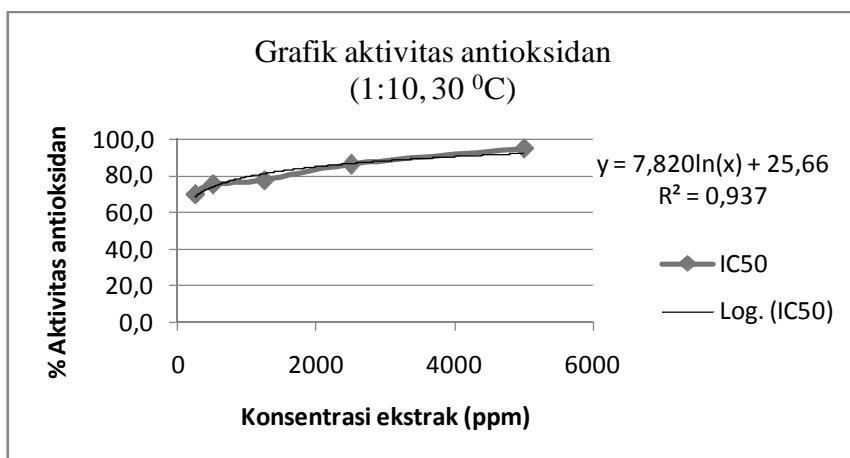


Grafik 2. Absorbansi terhadap waktu ekstraksi

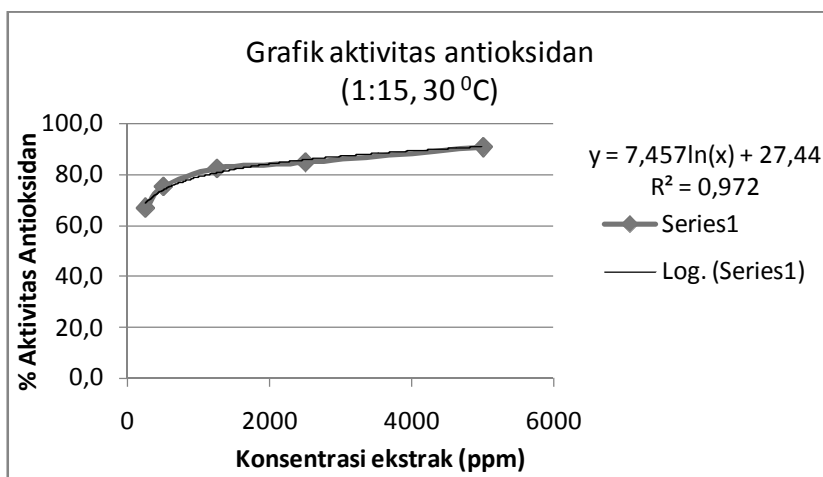
3. Grafik IC₅₀ Pada Berbagai Temperatur dan Jenis Pelarut



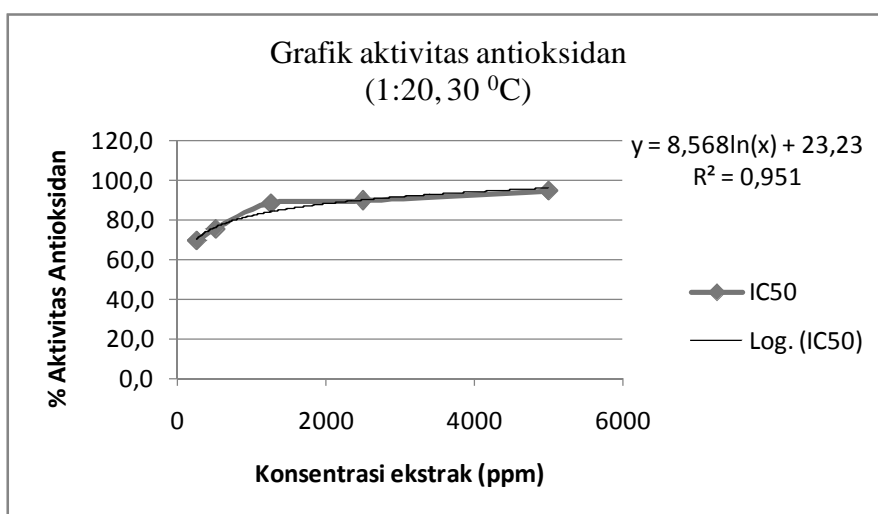
4. Grafik Aktivitas Antioksidan (IC_{50}) terhadap Konsentrasi Ekstrak Pelarut etanol, F:S=1:10, temperatur $30^{\circ}C$



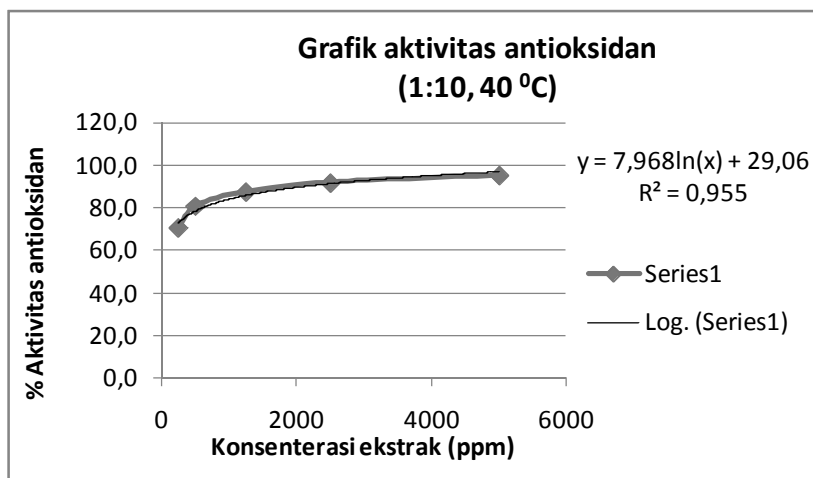
- Pelarut etanol, F:S=1:15, temperatur $30^{\circ}C$



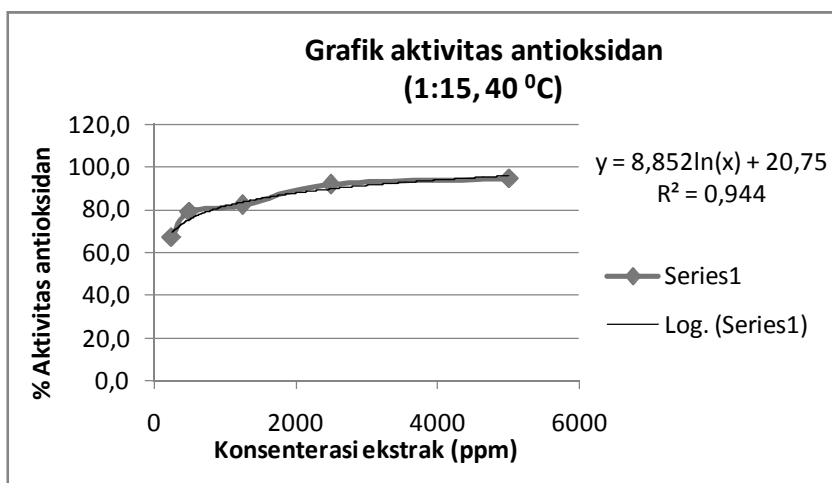
- Pelarut etanol, F:S=1:20, temperatur $30^{\circ}C$



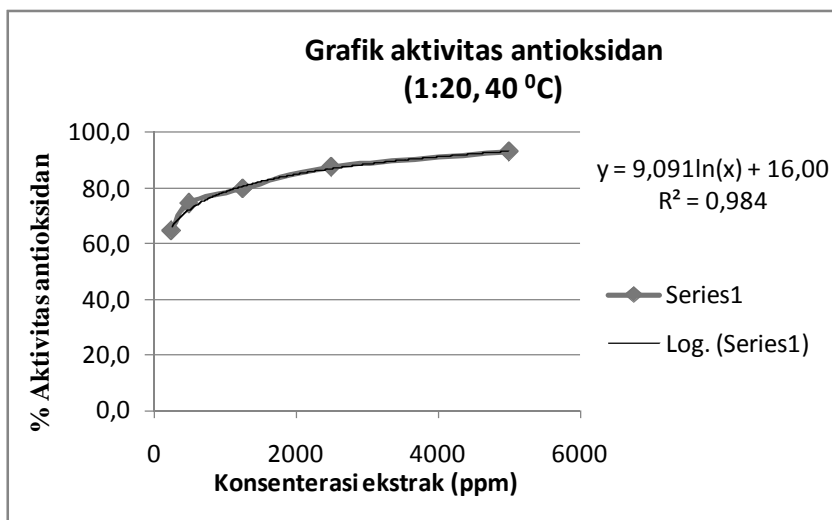
Pelarut etanol, F:S=1:10, temperatur 40°C



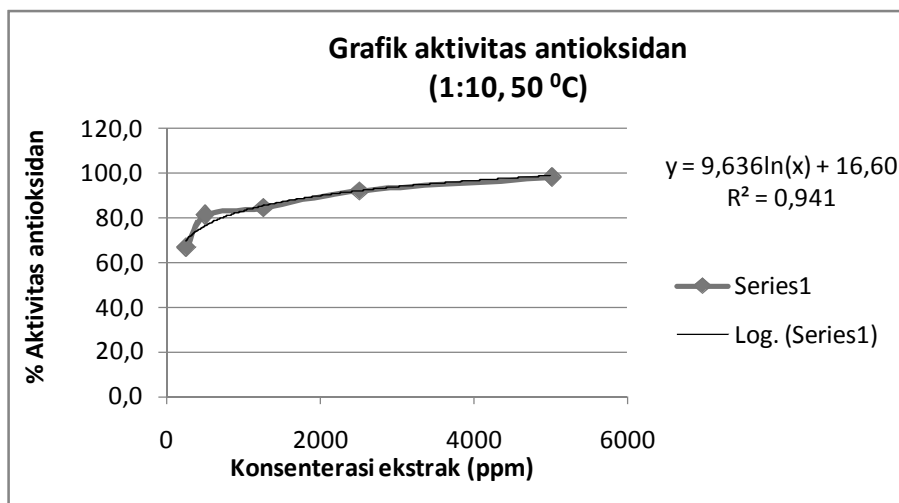
Pelarut etanol, F:S=1:15, temperatur 40°C



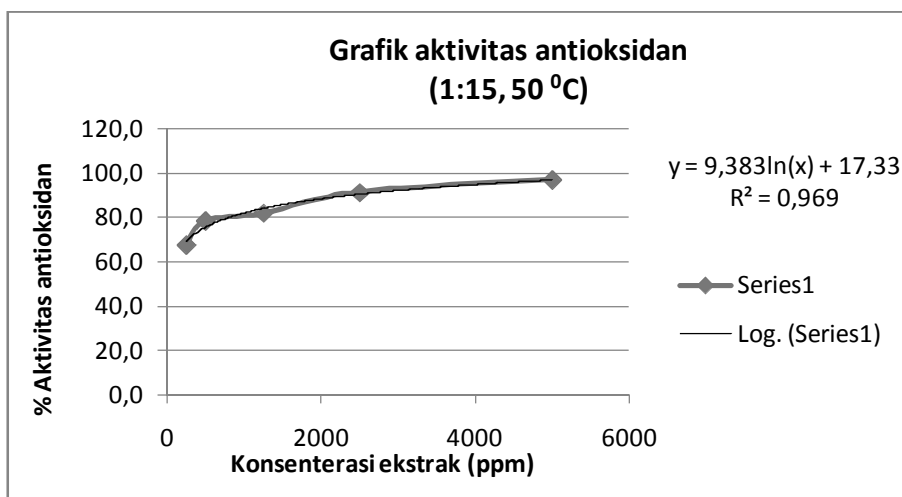
Pelarut etanol, F:S=1:20, temperatur 40°C



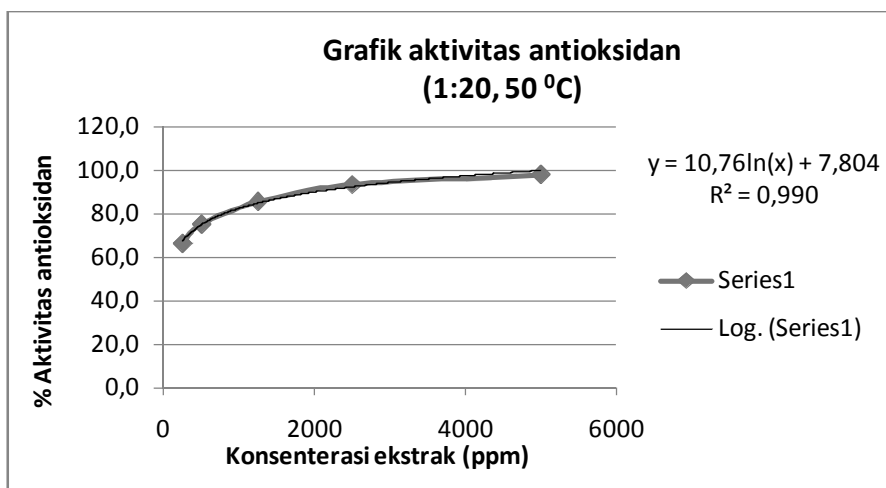
Pelarut etanol, F:S=1:10, temperatur 50°C

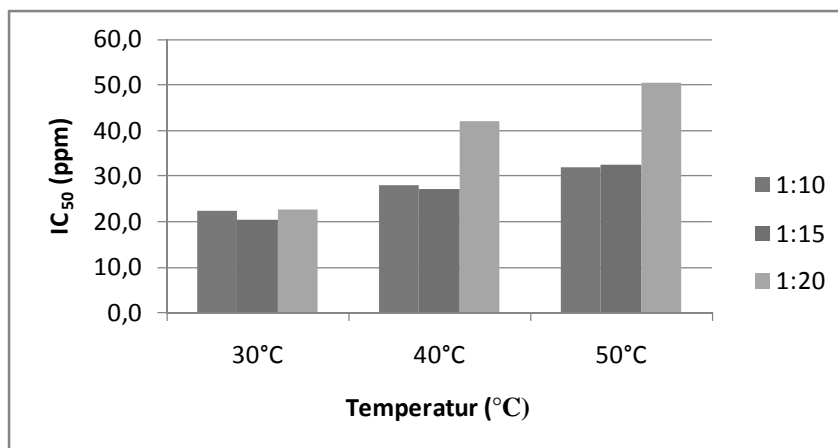


Pelarut etanol, F:S=1:15, temperatur 50°C

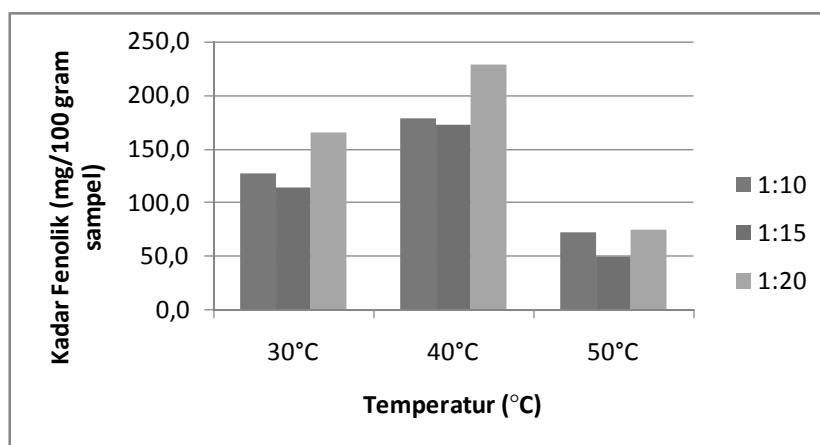


Pelarut etanol, F:S=1:20, temperatur 50°C

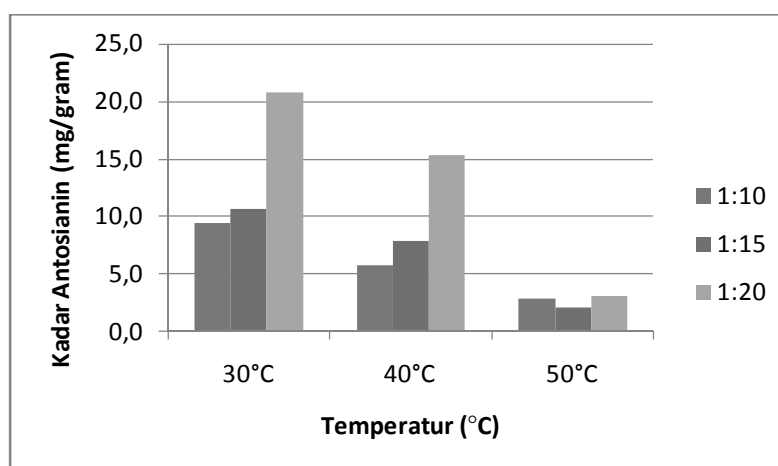


5. Grafik pengaruh temperatur dan F:S terhadap IC₅₀

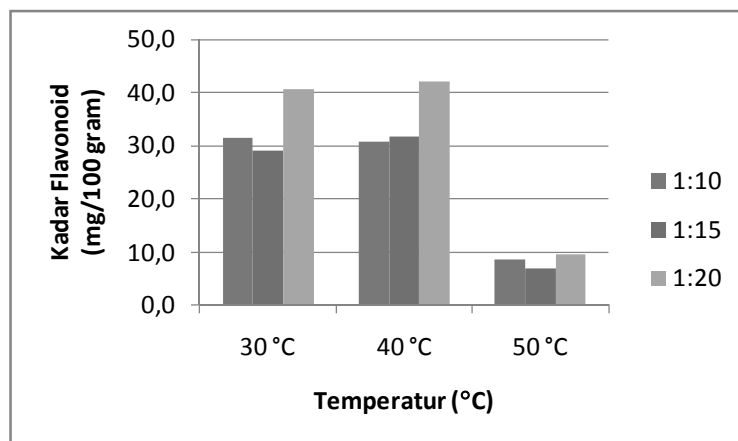
6. Grafik pengaruh temperatur dan F:S terhadap kadar fenolik



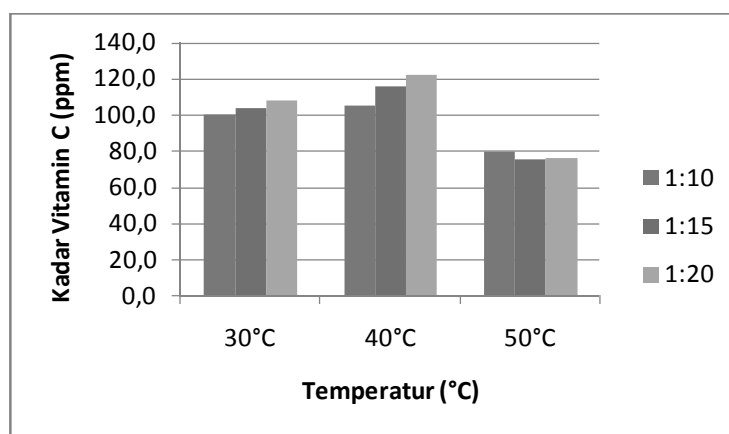
7. Grafik pengaruh temperatur dan F:S terhadap kadar antosianin



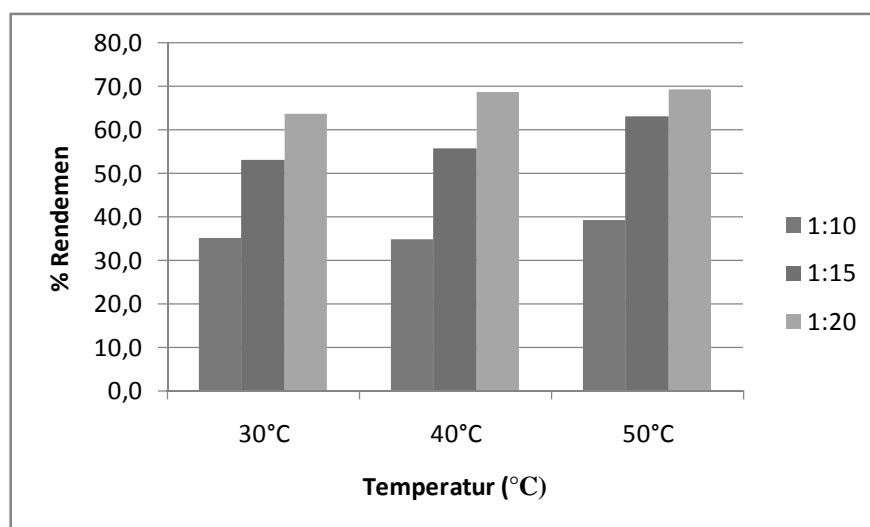
8. Grafik pengaruh temperatur dan F:S terhadap kadar flavonoid



9. Grafik pengaruh temperatur dan F:S terhadap kadar vitamin C



10. Grafik pengaruh temperatur dan F:S terhadap rendemen



LAMPIRAN D

CONTOH PERHITUNGAN

1. Penentuan aktivitas antioksidan metode DPPH

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{A_{DPPH} - A_{\text{Sampel}}}{A_{DPPH}} \times 100\%$$

Absorbansi DPPH 0,1 mM pada $\lambda = 517 \text{ nm} = 0,873$

Absorbansi larutan (ekstrak 5000 ppm + DPPH 0,1mM) = 0,05

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{(0,873 - 0,05)}{0,873} \times 100\% = 94,63\%$$

2. Penentuan IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresi logaritmik, yaitu:

$$y = \ln a x \pm b$$

IC₅₀ adalah jumlah ekstrak antioksidan yang dapat meredam 50% aktivitas radikal bebas.

Persamaan kurva % aktivitas antioksidan terhadap konsentrasi ekstrak 5.000 ppm pada kondisi F:S = 1:15 dan temperatur ekstraksi 30⁰C:

$$y = 7,774 \ln(x) + 29,43$$

$$50 = 7,774 \ln(x) + 29,43$$

$$x = \text{IC}_{50} = 20,60 \text{ ppm}$$

3. Penentuan kadar fenolik

Kadar fenolik dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar asam galat:

Data % T larutan ekstrak pada kondisi F:S = 1:20 dan temperatur 40⁰C:

$$\% T_1 = 11,8$$

$$\% T_2 = 11,4$$

$$\% \text{Trata-rata} = 11,6$$

$$A \text{ rata-rata} = 0,936$$

$$\text{Kurva standar asam galat : } y = 0,004 x + 0,01$$

$$y = 0,004 x + 0,01$$

$$0,936 = 0,004 x + 0,01$$

$x = \text{kadar fenolik} = 228,9 \text{ mg} / 100 \text{ gram sampel}$

4. Penentuan kadar flavonoid

Kadar flavonoid dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar catechin:

Data % T larutan ekstrak pada kondisi F:S = 1:20 dan temperatur 40°C:

% $T_1 = 58,5$

% $T_2 = 59,3$

% Trata = 58,9

A rata = 0,230

Kurva standar catechin : $y = 0,0053 x + 0,0075$

$y = 0,0053 x + 0,0075$

$0,230 = 0,0053 x + 0,0075$

$x = \text{kadar flavonoid} = 42,0 \text{ mg katekin} / 100 \text{ gram sampel}$

5. Penentuan kadar antosianin

Penentuan kadar antosianin dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$A = (A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 1 - (A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 4,5$$

$$\text{Kadar antosianin (mg/L)} = A \times 449,2 \times \text{DF} \times 1000 / 26900$$

Data absorbansi larutan ekstrak pada kondisi F:S = 1:20 dan temperatur 30°C:

$\lambda = 510 \text{ nm}$

Absorbansi buffer pH 1 (KCL) = 0,863

Absorbansi buffer pH 4,5 (Sodium asetat) = 0,602

$\lambda = 700 \text{ nm}$

Absorbansi buffer pH 1 (KCL) = 0,325

Absorbansi buffer pH 4,5 (Sodium asetat) = 0,313

$A = (0,863 - 0,325) - (0,602 - 0,313) = 0,249$

Kadar antosianin (mg/L) = $A \times 449,2 \times \text{DF} \times 1000 / 26900$

$$= 0,249 \times 449,2 \times 5 \times 1000 / 26900 = 20,83 \text{ mg/L}$$

6. Penentuan kadar vitamin C

Penentuan kadar vitamin C dihitung dengan menggunakan persamaan:

Kadar vitamin C = $(V \text{ natrium tiosulfat} - V \text{ blanko}) \times 8,08 / \text{massa sampel}$

Volume blanko = 0,6 mL

Data percobaan analisa vitamin C dengan F:S = 1:20 dan temperatur 40°C:

Massa sampel rata – rata = 0,0524 gram

Volume tiosulfat rata-rata = 1,4 mL

$$\text{Kadar vitamin C} = (1,4-0,6) \times 8,08 / 0,052 = 122,45 \text{ ppm}$$

7. Penentuan rendemen

Data ekstrak stroberi dengan F:S = 1:20 dan temperatur 40⁰C :

Massa sampel stroberi = 7,5 gram

Massa ekstrak setelah evaporasi = 5,20 gram

$$\text{Rendemen} = (5,20 / 7,5) \times 100 \% = 69,33 \%$$