

**LAPORAN PENELITIAN FUNDAMENTAL UT**



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN  
CABE RAWIT PUTIH (*Capsicum frutescens*)**

**Oleh :**  
**Whika Febria Dewatisari, S. Si, M.Si**  
**Ismi Rakhmawati, S. Pd., M. Pd**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS TERBUKA  
2017**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**PENELITIAN FUNDAMENTAL UT**

Judul Penelitian : Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Cabe Rawit Putih *Capsicum frutescens* •

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 113 /Biologi dan Bioteknologi Umum

Ketua Peneliti:

a. Nama Lengkap : Whika Febria Dewatisari, S. Si., M. Si

b. NIDN : 0009028501

c. Jabatan Fungsional : Lektor/IIIc

d. Program Studi : Biologi

e. Nomor HP : 08153782732

f. Alamat surel (e-mail) : [whika@ut.ac.id](mailto:whika@ut.ac.id)/[dewatisari@whika.web.id](mailto:dewatisari@whika.web.id)

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Ismi Rakhmawati, S. Pd., M. Pd

b. NIDN :

c. Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap :

b. NIDN :

c. Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Biaya Penelitian : dana internal PT Rp. Rp 20.000.000,-(Dua Puluh Juta Rupiah)

Bandar Lampung, 4 Desember 2017

Mengetahui,  
Kepala UPBJJ-UT Bandar Lampung



(Dra. Sri Ismulyaty, M. Si)  
NIP. 196305071989102001



Ketua Peneliti,



(Whika Febria Dewatisari, S. Si., M. Si)  
NIP: 198502092008122004

Menyetujui,  
Ketua lembaga penelitian

(Kristanti Ambar Puspitasari, M. Ed., Ph.D)  
NIP. 196102121986032001

**LEMBAR PERSETUJUAN LAPORAN PENELITIAN**

Tahun Penelitian : 2017  
Judul Laporan Penelitian : Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Cabe  
Rawit Putih *Capsicum frutescens*

Penulis Laporan/NIP : Whika Febria Dewatisari, S. Si., M.Si  
/198502092008122004  
Fakultas : UPBJJ-UT Lampung

Laporan penelitian tersebut telah memenuhi kaidah-kaidah dalam penulisan laporan. Oleh karena itu, laporan penelitian dapat diunggah ke Aplikasi Simpen, LPPM-UT.

Tangerang Selatan, 27 Nov 2017  
Menyetujui Penelaah 1,



Drs. Budi Prasetyo, M.Si  
NIP 19591228 199103 1 003

**LEMBAR PERSETUJUAN LAPORAN PENELITIAN**

Tahun Penelitian : 2017  
Judul Laporan Penelitian : Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Cabe Rawit Putih *Capsicum frutescens*  
Penulis Laporan/NIP : Whika Febria Dewatisari, S. Si., M.Si /198502092008122004  
Fakultas : UPBJJ-UT Lampung

Laporan penelitian tersebut telah memenuhi kaidah-kaidah dalam penulisan laporan. Oleh karena itu, laporan penelitian dapat diunggah ke Aplikasi Simpen, LPPM-UT.

Tangerang Selatan, 4 Desember 2017  
Menyetujui Penelaah 2,



Ir. Tuty Maria Wardiny, M.Si  
NIP 19640302 198910 2 001

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. Latar belakang

Penyakit infeksi masih merupakan penyebab utama tingginya angka kematian di Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri patogen dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit contohnya seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas sp* dan *Yersinia enterocolitica*. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* merupakan bakteri patogen yang paling banyak menyerang manusia

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri biasanya ditanggulangi dengan pemberian antibiotika. Tetapi, pada saat ini timbul masalah resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotika yang telah umum digunakan. Adanya resistensi Antibiotik, menyebabkan penurunan kemampuan antibiotik tersebut dalam mengobati infeksi dan penyakit pada manusia, hewan dan tumbuhan. Lebih lanjut, hal ini menyebabkan terjadinya masalah seperti meningkatnya angka kesakitan dan menyebabkan kematian, meningkatnya biaya dan lama perawatan, meningkatnya efek samping dari penggunaan obat ganda dan dosis tinggi.

Laporan terakhir dari Badan Kesehatan Dunia (WHO) dalam Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance juga menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di dunia, khususnya infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Methicillin, sehingga mengakibatkan menurunnya fungsi antibiotik tersebut. Data ini didukung dengan data penelitian WHO dan KPRA/PPRA tahun 2013 di enam rumah sakit pendidikan di Indonesia diidentifikasi bakteri penghasil ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) 40-50 persen resisten terhadap golongan *Cephalosporin* generasi 3 dan 4. Sifat resistensi dimiliki oleh *Escheria coli* terhadap antibiotik ampicillin, amoxycillin, streptomycin, dan doxycycline (Depkes, 2015 ; Krisnaningsih, 2005). Data ini didukung oleh penelitian di Kabupaten Bogor yang dilakukan oleh Susanto (2014) yang menyatakan bahwa *Escheria coli* mempunyai resistensi terhadap antibiotik seperti ampisilin, sefalotin, gentamisin, streptomisin, enrofloksasin, nalidixid acid, eritromisin, kloramfenikol, trimethoprim-sulfametoksazol, dan tetrasiklin dengan menggunakan metode sumur difusi pada Muller-Hinton agar.

Menurut Refdanita (2004) tentang pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif rumah sakit Fatmawati Jakarta secara retrospektif menggunakan

205 sampel klinis, hasil pengujian kepekaan terhadap antibiotik golongan penisilin paling tinggi pada *E. coli* 87,5%, *Klebsiella* sp 76,5% terhadap amoksisilin-asam klavulanat dan 3 *Pseudomonas* sp 37,5% terhadap sulbenisilin. Tingkat resistensi yang paling tinggi ditunjukkan oleh penisilin G yaitu 100% pada *Klebsiella* sp, *Pseudomonas* sp 98,7% dan *E. coli* 94,5%. Terhadap ampisilin menunjukkan tingkat resistensi mencapai 100% pada *E. coli*, *Klebsiella* sp 98,2%, *Pseudomonas* sp 97,4%. Sedangkan terhadap amoksisilin diperoleh tingkat resisten tertinggi pada *Klebsiella* sp 100%, *Pseudomonas* sp 98,4% dan *E. coli* 86,2%.

Penisilin juga sangat efektif untuk infeksi *Staphylococcus* dan telah digunakan dalam pengobatan sejak tahun 1940-an, setelah itu tahun 1942 mulai ditemukan kasus resistensi *S. aureus* di rumah sakit. Prevalensi tersebut meningkat dengan ditemukannya *S. aureus* yang menghasilkan penisilinase. Resistensi *S. aureus* terhadap methicillin (golongan penisilin), kemudian disebut Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) terkait dengan plasmid yang membawa gen blaZ yang menyandi  $\beta$ -laktamase. Selain itu, resistensi *S. aureus* juga dipengaruhi oleh ekspresi Penicillin Binding Protein 2a (PBP- 2a) yang mengesluks golongan penisilin keluar sel. Kasus resistensi *S. aureus* terhadap golongan penisilin terjadi pada lebih dari 86% kasus. Kasus resistensi inilah yang menyebabkan kegagalan terapi menggunakan amoxicillin pada infeksi *S. aureus*. Oleh karena itu, penelitian untuk mengatasi permasalahan resistensi ini penting dilakukan (Setyawati, 2015)

Kenyataan ini mendorong para ilmuwan untuk menyelidiki agen anti-infeksi baru untuk menghasilkan obat-obat baru). Tumbuhan masih merupakan salah satu sumber yang diperlukan dalam dunia medis, banyak tumbuhan yang digunakan sebagai obat penyembuh dan mencegah penyakit (Lambert *et al.*, 1997; Refdanita, 2002; Gurib-Fakim, 2006)

Salah satu tumbuhan yang mudah tumbuh dan memiliki ekonomi tinggi dan mudah diperoleh di Indonesia adalah cabe rawit putih. Cabe rawit putih (*Capsicum frutescens* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura dari famili Solanaceae yang digunakan sebagai bumbu masakan dan bahan obat (Cahyono, 2003; Heyne, 1987). Menurut Yuniwati (2012), secara umum buah cabe rawit putih mengandung zat anti oksidan dan gizi antara lain lemak, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, B1, B2, C dan senyawa alkaloid seperti capsaicin, oleoresin, flavanoid dan minyak esensial. Kandungan tersebut banyak dimanfaatkan sebagai bahan bumbu masak, ramuan obat tradisional, industri pangan dan pakan unggas.

Namun, bagian-bagian lain dari tanaman cabe rawit putih belum diteliti secara mendalam, khususnya bagian daunnya. Berdasarkan penelusuran literatur yang

dilakukan, informasi serta penelitian mengenai daun cabe rawit putih sangat sedikit. Dari hasil penelitian Yunita (2012), daun cabe rawit putih mengandung senyawa flavonoid dan glikon. Rahim (2014) daun cabe rawit putih memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Dalam upaya pemanfaatan daun yang belum digunakan secara maksimal oleh masyarakat, maka masih diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap daun ini terutama dalam hal sebagai antibakteri dan antioksidan.

Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ). Hal ini dapat dicapai dengan cara menginterpretasikan data eksperimental dari metode tersebut. DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak. Dalam uji antibakteri penggunaan ketiga mikrobial tersebut, karena *E. coli* merupakan bakteri penyebab diare, *S. aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab batuk pada manusia, dan *Pseudomonas sp* merupakan bakteri yang mengganggu saluran pernafasan dan saluran cerna.

## 2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah

1. Seberapa besar aktivitas antibakteri dan konsentrasi yang paling efektif terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp*.
2. Bagaimana pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cabe rawit putih terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp*.
3. Apakah daun cabe rawit putih memiliki kandungan zat antioksidan yang bersifat aktif?

### **3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk

4. Mengukur aktivitas antibakteri, konsentrasi efektif, dan pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cabe rawit putih terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp.*
5. Mengukur apakah ekstrak etanol daun cabe rawit putih memiliki aktivitas antioksidan

### **4. Manfaat penelitian**

Memberikan informasi kepada masyarakat umum tentang manfaat daun cabe rawit putih yang mempunyai potensi sebagai antibakteri dan antioksidan.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Cabe Rawit Putih (*Capsicum frutescens* L.)



Gambar 1. Cabe Rawit Putih (*Capsicum frutescens* L.)

##### a. Deskripsi Tanaman

Tanaman cabe rawit putih berupa terna perdu setinggi 50 cm sampai 150 cm, batang berbiku-biku atau bagian atasnya bersudut, tidak berbulu. Daun berbentuk bundar telur sampai lonjong atau bundar telur meruncing, 1 cm sampai 12 cm, tidak berbulu atau 2 sampai 3 bunga letaknya berdekatan. Mahkota bunga berbentuk bintang, berwarna putih, putih kehijauan atau kadang-kadang ungu, garis tengahnya 1,75 mm sampai 2 mm. Kelopak bunga berbulu dan tidak berbulu, panjang 2 mm sampai 3 mm. Buah tegak kadang-kadang pada tanaman hibrid buah merunduk, berbentuk bulat telur, jorong panjang 0,75 mm sampai 1,50 mm, lebar 2,5 cm sampai 12 cm, buah mudah berwarna hijau muda putih, dan buah tua/matang berwarna merah oranye (Yunita, 2012)

b. Kandungan Gizi dan Manfaat Cabe Rawit Putih

Buah cabe rawit putih mengandung zat-zat gizi yang cukup lengkap, yakni protein, lemak, karbohidrat, mineral (kalsium, fosfor dan besi), vitamin A B1, B2 dan C (Rukmana, 2002), serta mengandung zat oleoresin dan zat aktif capsaicin yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit rematik, obat batuk berdahak, sakit gigi, masuk angin, asma serta mencegah infeksi sistem pencernaan (Wijayakusuma, 1992). Heyne (1987) menyatakan bahwa cabe rawit putih banyak digunakan sebagai bumbu dapur seperti sambal, saus, asinan dan produksi makanan kaleng. Selain digunakan sebagai penyedap masakan, juga dapat digunakan untuk industri pewarna bahan makanan, bahan campuran pada berbagai industri pengolahan makanan dan minuman.

c. Syarat Tumbuh Tanaman Cabe rawit putih

Tanaman cabe rawit putih termasuk tanaman semusim yang tumbuh sebagai perdu dengan tinggi tanaman mencapai 1,5 m. Tanaman dapat ditanam di lahan kering (tegalan) dan di lahan basah (sawah). Kondisi lingkungan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi cabe rawit putih. Keadaan iklim dan tanah merupakan dua hal pokok yang harus diperhatikan dalam menentukan lokasi penanaman cabe rawit putih (Pitojo, 2003). Tanaman cabe rawit putih memerlukan tanah yang memiliki tekstur lumpur berpasir atau liat berpasir, dengan struktur gembur. Selain itu, tanah harus mudah mengikat air, memiliki solum yang dalam (minimal 1m), memiliki daya menahan air yang cukup baik, tahan terhadap erosi dan memiliki kandungan bahan organik tinggi (Setiadi, 1987). Tanaman cabe rawit putih memerlukan derajat keasaman (pH) tanah antara 6,0 – 7,0 (pH optimal 6,5) dan memerlukan sinar matahari penuh (tidak memerlukan naungan). Dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik, tanaman cabe rawit putih memerlukan kondisi iklim dengan 0-4 bulan basah dan 4-6 bulan dalam satu tahun dan curah hujan berkisar antara 600 mm-1.250 mm per tahun. Kelembaban udara yang cocok untuk tanaman cabe rawit putih adalah 60% -80%. Agar dapat tumbuh dengan baik dan bereproduksi tinggi, tanaman cabe rawit putih memerlukan suhu udara rata-rata tahunan berkisar antara 180C-300C (Cahyono, 2003).

## 2. Bakteri

Berdasarkan perbedaannya dalam menyerap warna, bakteri dibagi atas dua golongan yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif menyerap zat warna pertama yaitu kristal violet yang menyebabkannya berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif menyerap zat warna kedua yaitu safranin dan menyebabkan warna merah (Dwidjoseputro, 1988 dalam Ningtyas, 2010). Bakteri gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang tinggi (dapat mencapai 50%) dibandingkan bakteri gram negatif (sekitar 10%). Sebaliknya kandungan lipida dinding sel bakteri gram positif lebih rendah sedangkan pada dinding sel bakteri gram negatif tinggi yaitu sekitar 11-22% (Lay, 1992 dalam Ningtyas, 2010)

### a. *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus. (Pelczar dan Chan, 1988). Beberapa jenis *Staphylococcus* tumbuh dengan baik dalam kaldu biasa pada suhu 37°C. Pertumbuhan terbaik dan khas ialah pada suasana aerob, bakteri ini juga bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 7,4. Pada lempeng agar, koloni yang dihasilkan berbentuk bulat, cembung, buram, mengkilat, dan konsistensinya lunak. Koloni dari *S. aureus* berwarna kuning keemasan (Syahrurachman dkk, 1993).

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus dengan diameter 0,7-0,9 µm, membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk tumbuh serta bersifat anaerobik fakultatif. *S. aureus* bersifat termofilik, dengan kisaran suhu pertumbuhan antara 5-50°C. Bakteri ini dapat ditemukan pada kulit, kelenjar kulit dan selaput lendir (Fardiaz, 1993).

### b. *Escheria coli*

*E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang lurus dengan ukuran 1,1-1,5 µm, kisaran pertumbuhan (suhu 8°C sampai lebih dari 40°C), suhu pertumbuhan optimum pada 37 °C, dan dapat melakukan fermentasi laktosa dan fermentasi glukosa, serta menghasilkan gas. Dapat melakukan fermentasi laktosa dan fermentasi glukosa, serta menghasilkan gas. *E. Coli* merupakan flora normal dan hidup komensal didalam colon manusia. Indikator yang paling baik untuk menunjukkan bahwa air rumah tangga sudah dikotori feces adalah dengan adanya *E. coli* dalam air

tersebut, karena dalam faces manusia, baik sakit maupun sehat terdapat bakteri ini. Dalam satu gram faces terdapat sekitar seratus juta *E. coli* (Entjang, 2003).

*E. coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa digunakan pada isolasi kuman enterik dalam keadaan mikroaerofilik. Beberapa strain bila ditanam pada agar darah menunjukkan hemolisis tipe beta (Syahrurachman dkk, 2003).

Koloni yang tumbuh berbentuk bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata (Jawetz dkk, 1996). Koloni bakteri pada media diferensial agar Eosin Methylen Blue (EMB) membentuk morfologi koloni seperti kilatan logam (*metallic sheen*) (Dzen, dkk, 2003).

### c. *Pseudomonas sp.*

*Pseudomonas sp.* terdapat di tanah dan air, dan pada 10% orang merupakan flora normal di kolon (usus besar). *Pseudomonas sp.* berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,6 x 2  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai yang pendek. *Pseudomonas sp.* termasuk bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung (sheat) dan mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak.

Bakteri ini dapat tumbuh di air suling dan akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur N dan C. Suhu optimum untuk pertumbuhan *Pseudomonas sp.* adalah 42°C. *Pseudomonas sp.* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana. Bakteri ini sering terdapat di tanah, air, makanan, saluran pembuangan air, dan kain pel, pada daerah lembab di kulit, serta dapat membentuk koloni pada saluran pernapasan bagian atas dan merupakan flora normal di kolon (usus besar). *Pseudomonas sp.* menyebabkan kontaminasi pada perlengkapan anestesi dan terapi pernafasan, cairan intravena, bahkan air hasil proses penyulingan.

## 3. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegahnya terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat mencegah reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007).

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga dapat menyerang senyawa-senyawa lain seperti DNA, membran lipid, dan protein. Radikal ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada disekitarnya untuk menstabilkan diri, sehingga spesies kimia ini sering dihubungkan dengan terjadinya kerusakan sel, kerusakan jaringan, dan proses penuaan (Halliwell dan Gutteridge, 1999).

Dalam Winarsi (2007), secara umum antioksidan dikelompokkan menjadi 2, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim *Super Oksidase Dismutase* (SOD), katalase, dan glutation peroksidase. Antioksidan non-enzimatis masih dibagi dalam dua kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak seperti  $\alpha$ -tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin dan antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme. Antioksidan non-enzimatis dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, E dan  $\beta$ -karoten, flavonoid, isoflavon, antosianin, katekin, isokatekin dan asam lipoat. Senyawa fitokimia ini membantu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas.

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, *tokoferol* dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain (Pokorny dkk. 2001).

Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi.

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan

*Chemiluminescenc.* Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel. Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam etanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*).  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC < 50$  ppm), kuat ( $50 \text{ ppm} < IC < 100$  ppm), sedang ( $100 \text{ ppm} < IC < 200$  ppm), dan sangat lemah ( $IC > 200$  ppm).

### BAB III.

## METODOLOGI PENELITIAN

#### 1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Politeknik Negeri Lampung Rajabasa Bandar Lampung. Penelitian dilaksanakan selama 5 bulan, dimulai dari Maret 2017 sampai dengan bulan Agustus 2017.

#### 2. Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf dan oven, Erlenmeyer, cawan petri, ose, gelas beker, mikropipet, inkubator, *spreader glass*, *blue tips*, *yellow tips*, batang pengaduk, bunsen, dan Laminar Air Flow (LAF), timbangan elektronik, cawan petri, becker glass, stopwatch, corong dan saringan, inkubator, tabung reaksi, rak tabung, pipet ukur, ose, lampu spiritus, autoklaf inkubator, labu erlenmeyer, spet volume, gelas ukur, mikro pipet, pipet, pinset, jangka sorong, jarum inokulan, pengaduk, kertas label, aluminium foil dan tissue.

Bahan Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escheria coli*, dan *Peudomonas Sp* daun cabe rawit putih (*C. frutescens* L), sumur difusi, media Nutrient Agar (NA), media Nutrien Broth (NB), aquades, dan alkohol 70%.

n-heksana, etil asetat, metanol, etanol, dan butanol teknis yang telah didestilasi; *aquadest*; lempeng KLT silika gel 60 F254 (Merck); DPPH (Wako); kuersetin (Sigma- Aldrich); asam klorida p.a (Merck); petroleum eter (Merck); eter p.a (Merck); asam borat; asam oksalat; asam asetat glasial p.a. (Merck); asam sulfat p.a

(Merck); benzen p.a (Merck); besi (III) klorida (Merck); alumunium (III) klorida (Merck); aseton p.a (Merck); asetat anhidrida p.a (Mallinckordt); natrium hidroksida (Mallinckordt); kalium hidroksida (Mallinckordt); serbuk magnesium (Merck); serbuk seng (Merck); gelatin; natrium klorida (Mallinckordt); anisaldehyd (Merck); silika gel 60 (Merck); silika gel 60 H (Merck); Mayer LP; Dragendorff LP; Bouchardat LP; Molisch LP

Berikut ini adalah cara pembuatan beberapa reagen pereaksi di atas, antara lain (Departemen Kesehatan RI, 1979):

##### (a) Bouchardat LP

Tiap 100 ml larutan Bouchardat LP terdiri dari 2 gram yodium P dan 4 gram kalium yodida P dalam air.

(b) Dragendorff LP

Campur 20 ml larutan bismuth nitrat P 40% b/v dalam asam nitrat P dengan 50 ml larutan kalium yodida P 54,4% b/v, diamkan sampai memisah sempurna. Ambil larutan jernih dan encerkan dengan air secukupnya hingga 100 ml.

(c) Mayer LP

Campuran 60 ml larutan raksa (II) klorida P 2,266 % b/v dan 10 ml larutan kalium yodida P 50 % b/v, tambahkan air secukupnya hingga 100 ml.

(d) Mollisch LP

Larutan alfa naftol P 3 % b/v dalam asam nitrat 0,5 N.

### 3. Metode Pengambilan Data

#### 1) Uji Antibakteri

##### a. Persiapan

Daun *C. frutescens* L yang tidak terlalu tua dicuci dan dioven pada suhu  $50\pm 2^\circ$  C selama 8 jam. Setelah kering, dilakukan penggilingan hingga terbentuk serbuk. Pengeringan dilakukan agar bahan yang diperoleh tidak mudah rusak akibat mikroorganisme. Daun *C. frutescens* L disimpan dalam botol untuk digunakan lebih lanjut (Biswas dkk. 2012).

##### b. Ekstraksi Daun Cabe rawit putih (*C. frutescens* L)

Ekstraksi daun *C. frutescens* L dilakukan dengan mengacu pada metode Rahim *et al.* (2014) dengan sedikit modifikasi. Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu dideterminasi tanaman, kemudian daun cabe dikeringkan sebelum proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol dilakukan pada suhu ruang selama 24 jam dengan sesekali diaduk. Daun *C. frutescens* L yang sudah dikeringkan, dihancurkan sampai berukuran kecil lalu direndam dengan etanol 70%.

Selanjutnya filtrat etanol dipisahkan dari residunya dengan cara penyaringan dilanjutkan dengan maserasi ulangan selama 3 x 24 jam. Filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak ditimbang untuk mengetahui rendemennya, dan dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan kimia utamanya (Harbourne, 1987).



### c. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hal Pertama yang dilakukan adalah pembuatan media agar. Pembuatan media dilakukan dengan cara sebanyak 2 gram nutrisi agar dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam *beaker glass*, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan dimasukkan ke dalam tabung dan ditutup dengan kapas. Kemudian disterilkan dalam autoklaf suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian tabung yang berisi 5 mL larutan nutrisi agar dipindahkan ke dalam cawan petri dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang (Faradisa, 2008).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan difusi agar (Rahim *et al.*, 2014). Larutan uji ekstrak daun cabe rawit putih dengan konsentrasi 80%, 90%, 100% dan kontrol positif yaitu amoxilin 25 mcg, enrofloxacin 5 mg dan kanamicin 30 mcg untuk masing-masing uji bakteri.

### d. Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte, 2005). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm).

## 2) Uji Antioksidan

### a. Penyiapan Simplisia

Daun yang telah dikeringkan ini berasal dari 55.53 g daun segar cabe rawit. Tahapan kerja pembuatan simplisia daun cabe rawit sebagai berikut: pertama, pengambilan atau pemetikan daun segar Daun yang diambil terletak pada posisi ketiga dari pucuk hingga sebelum daun yang paling bawah. Lalu, daun dipisahkan dari bagian batang dan ranting. Daun direndam dalam air untuk membersihkan daun dari tanah atau kotoran lain. Daun diangkat dari air, lalu dibiarkan mengering. Setelah ditiriskan, daun dihamparkan di atas wadah lebar, lalu dibiarkan semalaman. Selanjutnya dilakukan sortasi untuk memisahkan kembali daun kering dari kotoran atau bahan-bahan asing yang ikut terbawa dalam proses pengolahan bahan uji. Setelah itu, daun dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan B30. Serbuk kemudian disimpan dalam wadah bersih dan terlindung dari cahaya.

b. Ekstraksi Simplisia

Sejumlah 9,3 g serbuk kering daun *C. frutescens* L. dimaserasi dengan pelarut n-heksana yang telah didestilasi. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana. Maserasi ini diulangi sebanyak tiga kali terhadap ampas. Selanjutnya, terhadap residu n-heksana dilakukan kembali maserasi berturut-turut dengan pelarut etil asetat dan etanol. Filtrat maserasi kembali diuapkan dengan penguap putar vakum. Pada akhirnya diperoleh ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol. Kemudian, masing-masing ekstrak ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal.

c. Uji Aktivitas Antioksidan secara Kualitatif

Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk melihat adanya aktivitas antioksidan sebelum dilakukan uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif. Masing-masing larutan yang diuji, yaitu ekstrak maupun fraksi ekstrak dibuat dalam konsentrasi yang sama lalu ditotolkan pada kertas kromatogram dengan pipet kapiler. Hal ini juga dilakukan pada larutan kuersetin sebagai pembanding. Totolan ini disemprotkan larutan DPPH dalam etanol, lalu dilihat warna yang terbentuk. Larutan uji dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan jika bercak berwarna putih sampai kuning dengan latar belakang ungu. Setelah uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan, tahap selanjutnya adalah uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif.

Fraksi teraktif dari ekstrak yang diketahui melalui uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri dielusi pada lempeng kromatografi lapis tipis oleh campuran eluen dengan perbandingan tertentu. Setelah proses elusi, lempeng dikeringkan dan dilihat pemisahan yang terbentuk dalam bentuk bercak berfluoresensi di bawah sinar ultraviolet panjang gelombang 254 atau 366 nm. Pada masing-masing bercak ini ditentukan nilai R<sub>f</sub>-nya. Lalu, bercak pada lempeng disemprot dengan pereaksi semprot DPPH. Adanya senyawa beraktivitas antioksidan ditunjukkan oleh perubahan warna yang timbul, di mana bercak akan berwarna putih sampai kuning dengan latar belakang ungu.

d. Uji Aktivitas Antioksidan secara Kuantitatif

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif ekstrak dan fraksi ekstrak daun *C. frutescens* L. dilakukan dengan metode peredaman radikal DPPH secara spektrofotometri dengan metode Blois. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung masing-masing dengan menggunakan rumus persamaan regresi. Metode uji aktivitas

antioksidan yang dipilih hanya DPPH, dikarenakan ketersediaan waktu yang ada serta langkah- langkah penelitian yang panjang, meliputi ekstraksi secara maserasi dan fraksinasi menggunakan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Selain itu, senyawa kimia dalam ekstrak dan fraksi ekstrak daun cabe rawit diharapkan mampu mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas sehingga aktivitas antioksidannya dapat ditunjukkan melalui metode DPPH.

- Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan cara menimbang seksama lebih kurang 10,0 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 100,0 ml dan cukupkan hingga batas. Wadah dilindungi dari cahaya dengan melapiskan kertas aluminium. Konsentrasi larutan DPPH yang diperoleh adalah 100 µg/ml.

- Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH dengan konsentrasi 100 µg/ mL kemudian diukur spektrum serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV pada range panjang gelombang 200 nm hingga 800 nm untuk ditentukan panjang gelombang optimumnya.

- Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko dipersiapkan dengan memasukkan 1,0 mL etanol p.a ke dalam tabung reaksi dan dicampurkan dengan 1,0 mL DPPH serta 2,0 ml etanol p.a, lalu dikocok hingga homogen. Tabung ini diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.

- Persiapan Larutan Uji

Setiap ekstrak dari daun *C. frutescens* L. baik ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol maupun fraksi ekstrak yang diuji dilarutkan dalam etanol Larutan uji induk dibuat dalam konsentrasi 1000 µg/ml, lalu dilakukan pengenceran dalam lima hingga enam seri konsentrasi (100; 150; 200 ; 250; 300; dan 350 µg/ml).

a) Pembuatan larutan induk bahan uji konsentrasi 1000 µg/ml.

Sejumlah 50 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam etanol p.a hingga 50,0 ml secara homogen. Fraksi ditimbang sebanyak kurang lebih 10 mg dan dilarutkan dalam etanol hingga 10,0 ml secara homogen.

b) Pembuatan larutan seri bahan uji konsentrasi 100; 150; 200 ; 250; 300; dan 350 µg/ml Dipipet sejumlah 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 1,75 ml lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a. Dari masing-masing larutan uji berbagai konsentrasi ini dipipet sejumlah 1,0 ml ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tabung reaksi yang sama juga dimasukkan 1,0 ml larutan DPPH 100 µg/mL, lalu ditambahkan 2,0 ml etanol, dihomogenkan dengan vortex, diinkubasi pada suhu 37<sup>o</sup>C sambil dilindungi dari cahaya selama 30 menit untuk terjadinya reaksi. Serapan dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang hasil optimasi panjang gelombang larutan DPPH.

- Pembuatan Kurva Standar

200 µl BHA standar konsentrasi 0 ppm, 18 ppm, 36 ppm, 72 ppm, dan 90 ppm dimasukkan masing-masing ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, 800 µl Tris Hcl pH 7,4 dan 1 ml DPPH ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Larutan dalam tabung reaksi divortex hingga homogen dan diinkubasi 20 menit di ruang gelap. Selanjutnya diukur jumlah antioksidan dengan melihat serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

- Penghitungan Nilai IC50

200 µl sampel konsentrasi 0 ppm (kontrol), 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, dan 90 ppm dimasukkan masing-masing ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, 800 µl Tris Hcl pH 7,4 dan 1 ml DPPH ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Larutan dalam tabung reaksi divortex hingga homogen dan diinkubasi 20 menit di ruang gelap. Selanjutnya jumlah antioksidan diukur dengan melihat serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Nintyas, 2010)

Persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$Pi = [(Ab-As)/Ab] \times 100\%$$

Keterangan:

*Pi* : Persen inhibisi

*Ab* : Absorbansi blanko

*As* : Absorbansi sampel

Rumus di atas digunakan untuk menghitung persen inhibisi. Setelah didapatkan persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persamaan  $y = A + Bx$  ditentukan dengan perhitungan secara regresi linear dimana  $x$  adalah konsentrasi ( $\mu$  g/ml) dan  $y$  adalah persentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% atau  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai  $IC_{50}$  didapatkan dari nilai  $x$  setelah menggantikan  $y$  dengan 50. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak n-heksana, etil asetat, etanol, dan fraksi-fraksi ekstrak hasil fraksinasi ekstrak teraktif sehingga akan diketahui fraksi ekstrak yang paling aktif.

Selanjutnya ditentukan harga  $IC_{50}$ , yakni konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% dengan menggunakan software regresi (Ningsih, 2010)

#### e. Fraksinasi Ekstrak Aktif

Fraksinasi ekstrak aktif dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk menentukan sistem eluen yang tepat untuk digunakan dalam kolom. Cuplikan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai lalu dimasukkan langsung pada bagian atas kolom. Fase diam kolom kromatografi yang dipilih adalah silika gel. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok berdasarkan gradien, yaitu dimulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan. Sistem kromatografi kolom yang digunakan tergantung jumlah ekstrak yang diperoleh. Jika jumlah ekstrak yang diperoleh sedikit, sebaiknya sistem kolom yang digunakan adalah kolom biasa. Sebaliknya, jika jumlah ekstrak yang diperoleh banyak, sistem kolom dipercepat dengan bantuan vakum dapat digunakan.

Kolom kromatografi akan memisahkan cuplikan ekstrak aktif ke dalam beberapa fraksi. Fraksi-fraksi ini dianalisa dengan kromatografi lapis tipis kembali untuk melihat pola kromatogram ataupun nilai  $R_f$ -nya. Fraksi ditotolkan pada lempeng aluminium dengan fase diam berupa silika gel F<sub>254</sub>. Setelah totolan kering, lempeng dielusi dalam bejana KLT yang telah dijenuhkan dan ditutup rapat. Jika pengembangan telah mencapai garis batas, lempeng diangkat dan dikeringkan. Bercak yang ada diamati warna fluoresensinya di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm.

Untuk menentukan bercak yang mempunyai aktivitas antioksidan, pereaksi semprot yang digunakan adalah larutan DPPH dengan hasil positif berupa zona kuning dengan latar belakang berwarna ungu. Golongan senyawa yang mempunyai

aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan mencocokkan dengan kromatogram referensi (Sutamihardja, Citroreksoko, Ossia dan Wardoyo, 2006).

Fraksi dengan pola kromatogram yang mirip kemudian digabung. Tujuan penggabungan adalah menyederhanakan pemisahan. Berbagai fraksi yang didapat kemudian diuji aktivitas antioksidannya secara kualitatif dan kuantitatif. Berdasarkan hasil uji aktivitas fraksi-fraksi ekstrak, penapisan fitokimia dilakukan pada fraksi yang paling aktif menggunakan pereaksi kimia dan KLT.

- Penapisan Fitokimia

Setelah uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan, ekstrak aktif diidentifikasi golongan senyawanya menggunakan pereaksi kimia. Penapisan fitokimia ini juga dilakukan pada fraksi paling aktif menggunakan pereaksi kimia serta KLT.

a. Identifikasi Alkaloid (Departemen Kesehatan, 1995)

Ekstrak sebanyak 500 mg ditambahkan beberapa ml asam klorida 2 N dan beberapa ml air, panaskan di atas penangas air selama 2 menit, lalu didinginkan dan disaring. Pindahkan filtrat ke atas kaca arloji, lalu tambahkan reagen. Jika dengan Mayer LP terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam etanol P, dan dengan Bouchardat P terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, berarti positif terdapat alkaloid.

b. Identifikasi Flavonoid (Departemen Kesehatan, 1995)

Larutan percobaan yaitu 0,5 g ekstrak dicampur dengan 10 ml etanol P dan menggunakan pendingin balik selama 10 menit. Setelah disaring dan diencerkan, ditambahkan 5 ml eter minyak tanah P. Kocok hati-hati lalu lapisan etanol diambil dan diuapkan pada suhu 40<sup>o</sup> di bawah tekanan. Sisa larutan ditambahkan 5 ml etil asetat, kemudian disaring. Langkah-langkah percobaan yang dilakukan antara lain: pertama, filtrat diambil 1 ml, diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dalam 1-2 ml etanol (95%) P, ditambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terbentuk warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol). Kedua, filtrat sebanyak 1 ml diuapkan, sisa dilarutkan dalam 1 ml etanol (95%) P, ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida P. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron. Ketiga, filtrat sebanyak 1 ml diuapkan hingga kering, dibasahkan sisa dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk asam borat P dan serbuk asam oksalat P, dipanaskan. Sisa dicampur dengan 10 ml eter P. Diamati dibawah sinar UV 366 nm, jika larutan

berfluoresensi kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid.

c. Identifikasi Saponin (Departemen Kesehatan, 1995)

Serbuk/ekstrak yang diperiksa sebanyak 0,5 gr dimasukkan ke tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian diamkan selama 10 menit. Jika positif mengandung saponin, akan terbentuk buih yang mantap setinggi 1 hingga 10 cm. Selain itu, pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang.

d. Triterpenoid dan steroid : Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi yang kering lalu ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau

e. Kuinon : Sejumlah sampel ditambahkan NaOH 1 N kemudian diamati perubahan warnanya. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning.

f. Fenol : Sejumlah sampel diekstrak dengan 20 ml etanol 70 %. Larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru

g. Penapisan Fitokimia secara KLT (H. Wagner at al, 1984)

Larutan uji yang hendak diperiksa yaitu fraksi ekstrak pertama-tama harus diuji pergerakannya pada lempeng KLT menggunakan campuran pelarut tertentu sebagai eluen. Sistem eluen yang terpilih adalah yang paling baik memisahkan komponen larutan uji. Fase diam KLT adalah silika gel pada lempeng alumunium. Larutan uji dilarutkan dalam pelarut yang sesuai lalu ditotolkan pada titik awal pergerakan. Setelah totolan kering, lempeng diletakkan dalam bejana KLT yang telah dijenuhkan dan tertutup rapat. Lempeng diangkat setelah eluen mencapai garis batas tertentu. Setelah lempeng dikeringkan, lempeng ini diamati fluoresensinya di bawah sinar UV panjang gelombang 254 dan 366 nm. Lempeng disemprot menggunakan pereaksi semprot universal untuk menampakkan bercak yang tidak berwarna dan tidak berfluoresensi. Contoh pereaksi semprot universal yang umum dipakai adalah asam sulfat pekat 10% dalam etanol. Pelat kromatogram disemprot dengan asam sulfat pekat, kemudian dipanaskan pada 100° C selama beberapa menit.

Larutan fraksi teraktif ditotolkan pada lempeng KLT, dielusi dengan sistem eluen yang sesuai, lalu disemprot menggunakan pereaksi semprot khas golongan

senyawa tertentu antara lain, besi (III) klorida 10% untuk senyawa fenol, dragendorff untuk senyawa alkaloid dan basa organik umum, alumunium (III) klorida 5% dalam etanol untuk senyawa flavonoid, anisaldehyd-asam sulfat untuk senyawa saponin, vanillin-asam sulfat untuk senyawa terpenoid, dan kalium hidroksida untuk senyawa antrakuinon. Bercak yang teramati kemudian ditentukan faktor retensi atau Rf-nya. Nilai Rf yang diperoleh lalu dibandingkan.

#### 4. Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas ekstrak etanol daun cabe rawit putih terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* sp. dianalisis secara statistik menggunakan metode *One way anova* (analisis varian satu arah) dengan taraf kepercayaan 95% atau  $\alpha = 0,05$ , dilanjutkan dengan uji Duncan.

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif ekstrak dan fraksi ekstrak daun *C. frutescens* L. dilakukan dengan metode peredaman radikal DPPH secara spektrofotometri dengan metode Blois. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung masing-masing dengan menggunakan rumus persamaan regresi. Metode uji aktivitas antioksidan yang dipilih hanya DPPH, dikarenakan ketersediaan waktu yang ada serta langkah-langkah penelitian yang panjang, meliputi ekstraksi secara maserasi dan fraksinasi menggunakan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom.



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Uji Anti Bakteri

Metode sumur difusi adalah uji antibakteri yang dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk menyeleksi adanya aktivitas antibakteri dari daun *C. frutescens* L terhadap bakteri uji, dalam ini diwakili oleh bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Pseudomonas* sp dan *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri diketahui dengan melihat ada tidaknya daerah hambatan (zona hambat) disekeliling. Semakin besar diameter zona hambat, maka semakin besar aktivitas antibakteri.

Hasil penelitian diperoleh variasi diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun *C. frutescens* L terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 1 . Ekstrak daun *C. frutescens* L dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* pada konsentrasi tertinggi yaitu 100%. Namun, ekstrak daun *C. frutescens* L sudah dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 80%. Untuk *Pseudomonas* sp. Ekstrak daun *C. frutescens* L menghambat pada konsentrasi 90%. Dari hasil tersebut mengindikasikan bahwa untuk menghambat pertumbuhan *E. coli* dibutuhkan konsentrasi yang lebih besar dibandingkan dengan untuk menghambat *S. aureus* ataupun *Pseudomonas* sp.

Hasil diameter zona hambat ekstrak daun *C. frutescens* L terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% didapatkan besar zona hambat yang berbeda-beda, yaitu berturut adalah 2.94 cm, 1.13 cm, dan 1.26 cm. Pada konsentrasi ekstrak 80% sudah dapat menghambat aktivitas bakteri dibandingkan dengan konsentrasi yang besar. Menurut Norrell dan Messley(1996) bahwa jika penggunaan antibakteri melebihi ambang batas, maka bakteri menjadi kebal terhadap antibakteri. Pada diameter zona hambat ekstrak daun *C. frutescens* L terhadap *Pseudomonas* sp.pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% didapatkan besar zona hambat yang berbeda-beda, yaitu berturut adalah 0.51 cm, 2.14 cm, dan 1.24 cm. Hasil diameter zona hambat ekstrak daun *C. frutescens* L terhadap *E. coli* .pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% didapatkan besar zona hambat yang berbeda-beda, yaitu berturut adalah 0.8 cm, 0.17 cm, dan 1.58 cm. Dari hasil uji dengan bakteri *E. coli* diketahui semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi daya hambatnya. Hal ini

dikarenakan semakin tinggi konsentrasi semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya.

Aktivitas ekstrak etanol daun *C. frutescent*. L dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* sp. lebih peka bila dibandingkan dengan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*. Menurut Radji (2011), hal ini disebabkan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis, sehingga dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya. Selain itu, perbedaan struktur dinding sel inilah yang menyebabkan kedua jenis bakteri tersebut memberikan respons terhadap pewarnaan Gram (Rastina, 2015)

Menurut Ajizah (2004), selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba yang dihasilkan juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam penelitian ini, aktivitas antibakteri daun kari diduga karena adanya kandungan senyawa-senyawa berkhasiat, seperti flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenolik. Nagappan *et al.*, 2011 menyebutkan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Adapun menurut de-Fatima *et al.*, 2006 flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri. Selain itu senyawa alkaloid diketahui bersifat antimikroba terhadap bakteri, fungi, virus dan protozoa. Mekanisme antimikroba senyawa alkaloid terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik.

Berdasarkan penelitian Rahim (2014), aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh daun cabe rawit diduga berasal dari unsur – unsur yang terkandung didalamnya yaitu flavonoid. Flavonoid dalam daun cabe rawit mempunyai aktifitas penghambatan lebih besar terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*). Aktifitas penghambatan dari ekstrak daun cabe rawit pada bakteri gram positif menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik. Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan cara mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri, dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Dewi, 2010). Ditambahkan menurut Cushnie *et al.* (2005), ada tiga mekanisme yang dimiliki flavonoid dalam memberikan efek antibakteri, antara lain dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat

fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi.

Menurut Jenie dan Kuswanto (1994) bahwa keefektifan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan tergantung pada sifat mikroba uji, konsentrasi dan lamanya waktu kontak. Sifat biostatistik dapat meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi yang ditambahkan. Mengacu pada standar umum yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan (1988) disebutkan bahwa mikroba dinyatakan peka terhadap antimikroba asal tanaman apabila mempunyai ukuran diameter daya hambatannya 1,2 – 2,4 cm. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun *C. frutescens* L peka atau sensitif pada konsentrasi 80% terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter daya hambat yang dihasilkan lebih dari standart yang ditentukan oleh Departemen Kesehatan. Untuk hasil hambatan terhadap bakteri *Pseudomonas* sp sesuai dengan standar Departemen, begitu pula terhadap *E. coli*.

Tabel 1. Hasil Pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun *C. frutescens* L terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp.

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan pertumbuhan bakteri (cm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
80%	2,94 <sup>c</sup>	0,51 <sup>a</sup>	0,8 <sup>a</sup>
90%	1,13 <sup>b</sup>	2,14 <sup>b</sup>	0,17 <sup>a</sup>
100%	1,26 <sup>b</sup>	1,24 <sup>b</sup>	1,58 <sup>b</sup>

Data analisis varian diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. menunjukkan nilai signifikan 0,000 ( $P < 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan signifikan pengaruh perlakuan yang diberikan pada bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi ekstrak etanol daun *C. frutescens* L konsentrasi 80%, 90% maupun 100% telah memberikan aktivitas yang menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* sp. Diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* sp. menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap berbagai konsentrasi ekstrak (Tabel 1)

Diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* untuk konsentrasi ekstrak 80% (2.94 cm) menunjukkan perbedaan nyata terhadap konsentrasi ekstrak yang lain. Hal ini berarti konsentrasi ekstrak tersebut telah menunjukkan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan konsentrasi ekstrak 90% (1.13 cm) menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata dengan konsentrasi ekstrak 100% (1.26 cm). Hal ini berarti konsentrasi ekstrak

tersebut menunjukkan efek yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* untuk setiap konsentrasi ekstrak terbaik 80% (0.51 cm) dan menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap konsentrasi ekstrak yang lain. Hal ini berarti konsentrasi ekstrak tersebut telah menunjukkan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Namun, pada konsentrasi ekstrak 90% (2.14 cm) menunjukkan tidak ada perbedaannya yang nyata dengan konsentrasi ekstrak 100% (1.24 cm). Hal ini berarti, konsentrasi ekstrak tersebut menunjukkan efek yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas* sp. untuk setiap konsentrasi ekstrak 80% (0.8 cm) dan 90%(0.17 cm), kedua konsentrasi ekstrak ini hasilnya tidak berbeda nyata, sedangkan pada konsentrasi 100% (1.58 cm) menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini berarti konsentrasi ekstrak tersebut telah menunjukkan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp.

Ekstrak daun *C. frutescens* L memiliki efektifitas menghambat lebih tinggi terhadap *S. aureus* dibanding *Pseudomas* sp dan *E. coli*. Dalam Palmer *et al.* (1998) bakteri gram positif seperti *S. aureus* lebih sensitif terhadap 21 jenis minyak atsiri tumbuhan dibandingkan bakteri gram negatif. Kusmiyati dan Agustini (2006) menuliskan aktivitas ekstrak B dari kultur *Porphyridium cruentum* tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*E. coli*), tetapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *S. aureus*). Selain itu, Hartini *dkk.* (2008) membuktikan hasil aktivitas antimikroba ekstrak etanol buah, ekstrak etanol kulit batang pulasari, ekstrak etanol buah adas dan kulit batang pulasari (4 : 3) menunjukkan bahwa aktivitas terhadap *S. aureus* lebih besar dibandingkan terhadap *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan penelitian ekstrak air daun kecobang (Ningtyas, 2010) dimana aktivitas terhadap *S. aureus* lebih besar dibandingkan terhadap *E. coli*.

Respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap senyawa ini disebabkan karena adanya perbedaan kepekaan pada bakteri gram positif dan bakteri Gram negatif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak air daun *C. frutescent*. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan

luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida (Pelczar dan Chan, 1986).

Pengaruh antimikroba juga dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Air bersifat relatif polar sehingga senyawa yang tersari relatif bersifat polar. Kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram positif sehingga terlihat diameter zona hambat *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan *Pseudomonas sp* dan *E. coli*. Hal ini disebabkan mayoritas dinding sel bakteri gram negatif terdiri atas kandungan lipid yang lebih banyak daripada sel bakteri gram positif yang mayoritas kandungan dinding selnya adalah peptidoglikan. Sehingga, jika senyawa yang bersifat polar sukar untuk melalui dinding sel gram negatif.

Hougton dan Raman (1998) menuliskan senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar lebih mudah larut dengan pelarut nonpolar. Yunita (2012) membuktikan komponen bioaktif pada ekstrak bunga kecombrang berbeda-beda sesuai dengan polaritasnya. Komponen fitokimia ekstrak heksana terdiri dari steroid, triterpenoid, alkaloid, dan glukosida. Komponen fitokimia ekstrak etil asetat adalah steroid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan glikosida. Sedangkan ekstrak etanol menghasilkan komponen fenolik, terpenoid, alkaloid, saponin, dan glikosida.

Menurut Kanazama dkk (1995) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik- hidrofobik (HLB : *hydrophilic lipophilic balance*). Menurut Branen dan Davidson (1993), polaritas senyawa merupakan sifat fisik senyawa antimikroba yang penting. Sifat hidrofobik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba, tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik; sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-hidrofobik untuk mencapai aktivitas yang optimal.

Pada metode ini digunakan amoxicillin, enrofloxacin, dan kanamicin sebagai kontrol positif untuk pengujian aktivitas antibakteri, karena merupakan salah satu antibiotika yang mempunyai spektrum kerja yang luas. Amoxicillin adalah salah satu jenis antibiotik golongan penisilin yang digunakan untuk mengatasi infeksi berbagai jenis bakteri, seperti infeksi pada saluran pernapasan, saluran kemih, dan telinga. Amoxicillin hanya berfungsi untuk mengobati infeksi bakteri dan tidak bisa mengatasi infeksi yang disebabkan oleh virus, misalnya flu. Obat ini membunuh

bakteri dengan cara menghambat pembentukan dinding sel bakteri. Amoksisilin berspektrum luas dan sering diberikan pada pasien untuk pengobatan beberapa penyakit seperti pneumonia, otitis, sinusitis, infeksi saluran kemih, peritonitis, dan penyakit lainnya. Obat ini tersedia dalam berbagai sediaan seperti tablet, kapsul, suspensi oral, dan tablet dispersible. Enrofloxacin merupakan antimikroba ini menghambat topoisomerase II prokariotik (DNA girase) yang merupakan enzim penting untuk replikasi bakteri. Agen anti mikroba ini memiliki spektrum fungsi yang luas, terutama terhadap bakteri gram negatif, seperti *Aeromonas salmonicida* (menyebabkan furunkulosis), *Renibacterium salmoninarum* (bakteri yang menyebabkan penyakit ginjal), *Vibrio anguillarum* (menyebabkan penyakit mulut merah), dan organisme intraselular. Kanamicin adalah antibiotika bakterisidal aminoglikosida yang digunakan secara luas terutama untuk infeksi-infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif. Kanamicin bekerja dengan cara mengikat secara ireversibel sub unit 30s dari ribosom prokariotik bakteri sehingga menghambat sintesa protein yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan bakteri itu.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa amoxilin dapat menghambat *S. aureus* dengan zona bening sebesar 2.51 cm, zona hambat ini lebih besar daripada konsentrasi ekstrak *C. Frustescens* 90 % dan 100 %, tetapi lebih kecil daripada konsentrasi 80%. Jadi Konsentrasi optimal untuk *C. frustescens* terhadap *S. aureus* adalah di konsentrasi ekstrak 80%. Pada *Pseudomonas* sp. daya hambat amoxilin lebih besar dari pada konsentrasi 80% dan 100%, tetapi lebih kecil daya hambatnya dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 90 %, sehingga konsentrasi ekstrak 90 % sudah dapat menghambat *Pseudomonas* sp. Daya hambat amoxilin terhadap *E. coli* masih lebih besar dibandingkan ketiga konsentrasi (80%, 90%, dan 100%). Hal ini berarti konsentrasi ekstrak *C. frustescens* belum bisa menggungguli kemampuan amoxilin.

Untuk kontrol positif enrofloxacin terhadap *S. aureus*, daya hambatnya lebih besar daripada konsentrasi ekstrak 90% dan 100% tetapi lebih kecil daripada konsentrasi ekstrak 80%. Pada *Pseudomonas* sp, enrofloxacin masih lebih besar daya hambatnya dibandingkan ketiga konsentrasi, dan pada *E. coli* juga kontrol positif enrofloxacin tetap lebih besar dari ketiga konsentrasi ekstrak *C. frustescens*.

Untuk kanamicin, daya hambat terhadap *S. aureus* lebih besar dari konsentrasi ekstrak 90% dan 100 %, tetapi lebih kecil dari konsentrasi ekstrak 80 %, sedangkan terhadap *Pseudomonas* sp, daya hambatnya lebih besar dari konsentrasi 80% dan 100% tetapi lebih kecil daripada konsentrasi ekstrak 90%.

Terhadap *E. coli* daya hambat kanamicin masih lebih besar dari semua konsentrasi ekstrak.

Dari pemaparan di atas dapat diambil kesimpulan bahwa konsentrasi ekstrak *C. frutescent* terhadap *S. aureus* terbaik adalah pada konsentrasi ekstrak 80%, dibandingkan konsentrasi ekstrak yang lain termasuk antibiotik sintetis yang merupakan kontrol positif. Terhadap *Pseudomonas sp.*, konsentrasi ekstrak belum dapat mengungguli enrofloxacin, dan terhadap *E. coli*, daya hambat amoxilin masih lebih tinggi daripada ketiga konsentrasi ekstrak.

Tabel 2. Zona Hambat Kontrol Positif terhadap *S. aureus*, *Pseudomonas sp.*, dan *E. coli*

Kontrol Positif	Zona Hambat (cm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>
amoxilin	2.23	2.01	2.29
enrofloxacin	2.51	2.67	2.14
kanamicin	1.95	1.85	2.22

## 2. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

### a. Uji aktivitas Antioksidan secara Kualitatif

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH. Senyawa DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah senyawa radikal bebas yang berpusat pada nitrogen organik yang stabil dan berwarna ungu gelap. Pada penelitian uji aktivitas antioksidan ini digunakan metode DPPH dengan alasan pertama, metode DPPH telah digunakan secara luas sebagai metode uji aktivitas antioksidan pada penelitian ilmiah berskala internasional sehingga hasil yang ditunjukkan dapat dipercaya; kedua, metode DPPH secara khusus mampu menunjukkan aktivitas antioksidan senyawa dengan gugusan hidrogen dan fenol yang merupakan struktur senyawa antioksidan pada umumnya; ketiga, secara teknis prosedur kerja dengan DPPH memerlukan waktu yang tidak panjang dan mudah dalam pelaksanaannya (Yunita, 2012)

Pertama-tama, uji aktivitas dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dilakukan dengan cara kualitatif, yaitu pengamatan terhadap warna bercak ekstrak yang telah ditotolkan setelah disemprot dengan larutan DPPH dalam etanol. Jika pada bercak yang telah disemprot timbul zona berwarna putih kekuningan, ekstrak tersebut dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan. Uji kualitatif ini dilakukan pada kertas kromatogram dimana larutan standar dan beberapa ekstrak lainnya yang diuji memiliki konsentrasi yang sama. Ekstrak yang menunjukkan aktivitas antioksidan dari pengujian kualitatif adalah ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol. Ketiga

ekstrak ini kemudian diuji aktivitasnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis agar diketahui nilai persen inhibisi yang menunjukkan kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH. Pertama-tama, dilakukan optimasi panjang gelombang DPPH (Yunita, 2012)

Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH didasarkan pada pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya yang sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan kepada larutan DPPH. Aktivitas ini dinyatakan dalam nilai konsentrasi efektif (*Effective Concentration*),  $EC_{50}$  atau  $IC_{50}$  (Shivaprasad, Mohan, Kharya, Shiradkar dan Lakshman, 2005). Blois (1958) menyebutkan bahwa ekstrak tanaman yang memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 200  $\mu\text{g/ml}$  berdasarkan pengujian metode DPPH tergolong beraktivitas kuat sebagai antioksidan.

Hasil uji aktivitas secara kuantitatif menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana memiliki nilai  $IC_{50}$  170,31  $\mu\text{g/ml}$ , ekstrak etil asetat memiliki nilai  $IC_{50}$  103,42  $\mu\text{g/ml}$ , dan ekstrak etanol memiliki nilai  $IC_{50}$  45,26  $\mu\text{g/ml}$ . Berdasarkan metode Blois ini ketiga ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan ekstrak etanol sebagai ekstrak teraktif. Sebagai pembanding, digunakan kuersetin yang memiliki nilai  $IC_{50}$  1,14  $\mu\text{g/ml}$  (Tabel 4). Nilai  $IC_{50}$  ekstrak yang diperoleh jauh lebih besar dari nilai  $IC_{50}$  kuersetin disebabkan kuersetin sudah dalam bentuk senyawa murni, sedangkan ekstrak mengandung berbagai senyawa yang beraktivitas tidak sinergis atau seragam sebagai antioksidan.

Tabel. 3 hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *C. frutescent*

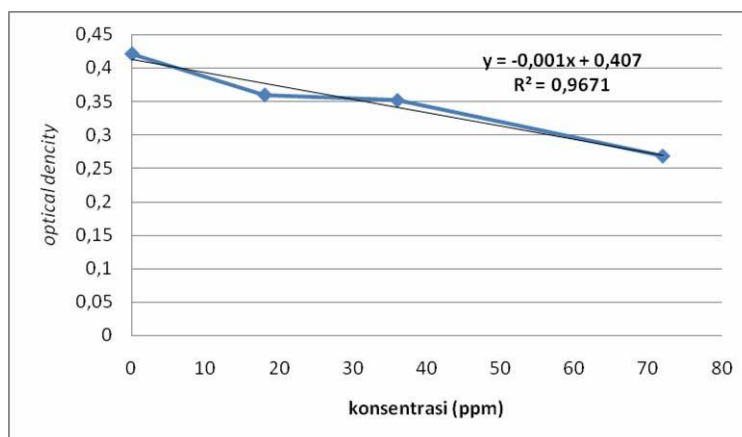
Sampel	Absorbansi Blanko	Larutan Uji		%	Persamaan linier	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
		Konsentrasi dalam tabung ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi			
Ekstrak kuersetin	0,5680	0,250	0,4880	14,08	$y = 40,58x + 3,603$ $R^2 = 0,996$	1,14
		0,500	0,4410	22,36		
		0,750	0,3690	35,04		
		1,000	0,3170	44,19		
		1,250	0,2510	55,81		
		1,500	0,2090	63,20		
Ekstrak n-heksana	0,5680	25,300	0,4950	12,85	$y = 0,269x + 6,743$ $R^2 = 0,981$	170,31
		37,950	0,4720	16,90		
		50,600	0,4550	19,89		
		63,250	0,4250	25,18		
		75,900	0,4080	28,17		
		101,200	0,3820	32,75		
Ekstrak Etil Asetat	0,5680	25,600	0,4720	16,90	$y = 0,414x + 6,496$	103,42
		38,400	0,4480	21,13		



		51,200	0,4140	27,11	$R^2 = 0,979$	
		64,000	0,3630	36,09		
		76,800	0,3480	38,73		
		102,400	0,2980	47,54		
Ekstrak	0,5680	6,475	0,5210	8,27	$y = 0,988x +$	45,26
Etanol		12,950	0,4900	13,73	2,295	
		25,900	0,4050	28,70	$R^2 = 0,995$	
		38,850	0,3250	42,78		
		51,800	0,2600	54,23		
		64,750	0,2020	64,44		

b. Uji Aktivitas Antioksidan secara Kuantitatif

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menggunakan BHA (butil hidroksianisol). Dalam Widianti (2010), BHA adalah antioksidan sintesis yang biasa digunakan untuk lemak dan minyak makanan. BHA digunakan sebagai pembanding pada antioksidan pada ekstrak daun *C. frutescent*. Hasil kurva standar dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva standar BHA (butil hidroksianisol)

Kurva standar juga menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat antara konsentrasi dengan persentase inhibisi. Hal ini diperlihatkan dengan nilai  $r$  (koefisien korelasi). Nilai  $r$  yang mendekati 1 membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier dan simpangan baku yang kecil menunjukkan ketepatan yang cukup tinggi. Nilai koefisien korelasi menyatakan bahwa terdapat korelasi antara konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi sebesar 0,96. Hal ini menunjukkan bahwa lebih dari 96% keakuratan data dipengaruhi oleh konsentrasi bahan, sedangkan kurang dari 4% dipengaruhi oleh faktor lain (Ningtyas, 2010)

Tabel 4. Hasil pengujian aktifitas antioksidan ekstrak daun *C. frutescent* L

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Optical density (OD)	% inhibisi	IC <sub>50</sub> *
0	0,5734	0	45,26 $\mu\text{g/L}$
18	0,5131	10,51	
36	0,504	12,1	
72	0,3958	30,97	
90	0,3182	44,5	

\*) IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol sebagai ekstrak teraktif

Hasil pengujian aktifitas antioksidan ekstrak daun *C. frutescent* dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut, maka semakin tinggi persentase inhibisinya, hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka semakin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Dalam Mardawati *et al.* (2008), secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50, kuat untuk IC<sub>50</sub> bernilai 50-100, sedang jika IC<sub>50</sub> bernilai 100-150, dan lemah jika IC<sub>50</sub> adalah 151- 200. IC<sub>50</sub> adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50 %. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun *C. frutescent* menggunakan metode DPPH (2,2-diphenil- 1-picrylhydrazil radical) memberikan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 45,26  $\mu\text{g/L}$ , sehingga dapat diketahui aktifitas dari ekstrak air daun *C. frutescent* sangat kuat.

Dalam Rohman dan Riyanto (2005), ekstrak etanol daun kemuning diuji daya antioksidannya dengan metode DPPH dan hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemuning mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 126,17  $\mu\text{g/ml}$ , 15 kali lebih lemah dibanding dengan vitamin E (IC<sub>50</sub> vitamin E = 8,27  $\mu\text{g/ml}$ ). Zuhra dkk. (2008) menuliskan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androginus* (L) Merr.) memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 80,81  $\mu\text{g/ml}$ . Dalam Andayani *et al.* (2008), nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol buah tomat adalah 44,06  $\mu\text{g/ml}$ . Hanani (2005) meneliti nilai IC<sub>50</sub> dari vitamin C dan BHT (butil hidroksitoluen) yaitu 3,45  $\mu\text{g/ml}$  dan 3,81  $\mu\text{g/ml}$ . Dengan membandingkan nilai IC<sub>50</sub>, maka diketahui ekstrak air daun *C. frutescent* memiliki kemampuan antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan vitamin E, vitamin C dan BHT (butil hidroksitoluen) namun lebih tinggi dibanding dengan ekstrak etanol daun kemuning, daun katuk (*Sauropus androginus* (L) Merr.) dan ekstrak etanol buah tomat. ). Ekstrak daun kecombrang dengan metode DPPH memberikan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 24,39  $\text{mg/L}$ , sehingga dapat diketahui

aktifitas dari ekstrak air daun kecombrang masih sangat kuat daripada Daun *C. frutescent* L (Ningtyas, 2010)

c. Fraksinasi Ekstrak Aktif

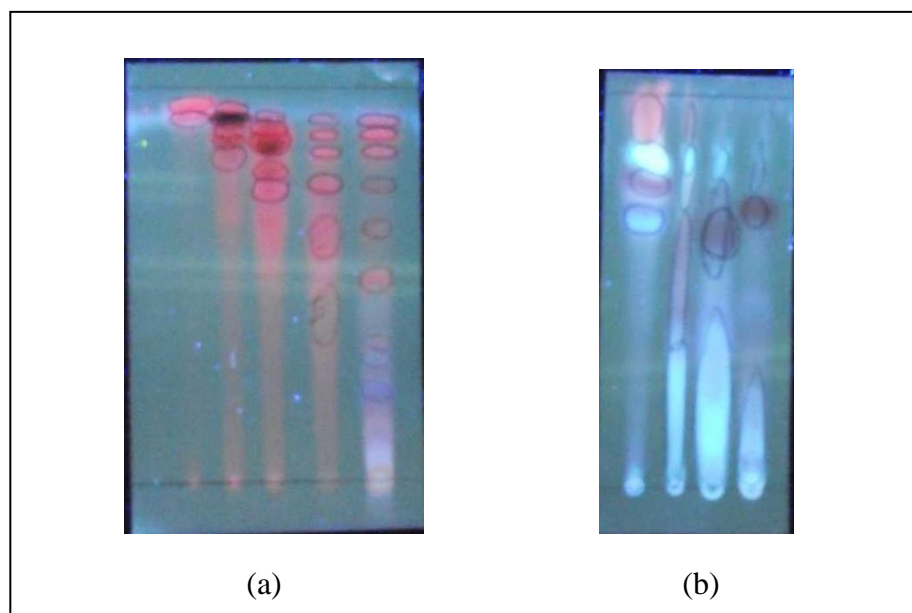
Berdasarkan uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif yang dilakukan, ekstrak daun *C. frutescens* L. yang paling aktif adalah ekstrak etanol dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 45,26  $\mu\text{g/ml}$ . Pertama-tama, dilakukan penentuan pola kromatogram ekstrak etanol secara KLT. Ekstrak etanol dielusi menggunakan lempeng KLT oleh campuran eluen, baik n-heksana-etil asetat maupun etil asetat- etanol berdasarkan gradien. Setelah lempeng dielusi, lempeng dibiarkan mengering lalu diamati fluoresensinya di bawah sinar UV panjang gelombang 254 nm maupun 366 nm. Lalu, lempeng tersebut disemprot dengan pereaksi semprot universal, yaitu larutan asam sulfat pekat dalam etanol dan dipanaskan pada suhu 100-110<sup>o</sup>C selama 5 hingga 10 menit. Pada pemanasan ini timbul bercak kuning kecoklatan pada setiap lempeng yang menandakan adanya senyawa Fraksinasi ekstrak aktif daun *C. frutescens* L. dilakukan menggunakan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis. Sistem kromatografi kolom yang digunakan adalah kromatografi kolom dengan bantuan vakum atau tipe dipercepat dengan diameter 6,2 cm dan panjang 19,5 cm.

Kromatografi kolom dengan bantuan vakum melakukan pemisahan komponen ekstrak berdasarkan gradien pelarut. Kelemahan dari sistem kromatografi dipercepat ini adalah pemisahan dilakukan secara paksa oleh pompa vakum sehingga pemisahan komponen fraksi- fraksi yang dihasilkan tidak sangat sempurna. Selain itu, jumlah fraksi yang dihasilkan umumnya tidak sebanyak hasil fraksi yang berasal dari pemisahan oleh kolom kromatografi tanpa bantuan vakum. Sistem kromatografi kolom dengan bantuan vakum ini sendiri dipilih dengan alasan waktu penelitian yang terbatas. Kelemahan dari sistem ini diatasi dengan pembuatan kolom yaitu dari silika gel H ukuran yang sekompak mungkin untuk lebih memperbaiki pemisahan yang terjadi serta penggunaan ekstrak yang berjumlah besar pula untuk memperoleh jumlah fraksi yang cukup banyak (Yunita, 2012)

Ekstrak etanol daun *C. frutescens* L. ditimbang sebanyak 29,9 g lalu dilarutkan dalam etanol hingga homogen. Larutan ekstrak dalam etanol dicampur dengan silika gel sedikit demi sedikit hingga terpakai kurang lebih 25 g. Pencampuran larutan ekstrak dengan silika gel dimaksudkan untuk membentuk butiran serbuk dari ekstrak sehingga elusi ekstrak dalam kolom kromatografi dapat dilakukan. Kolom kromatografi dipersiapkan dengan memasangnya pada

statip dengan bantuan klem. Silika gel H adalah jenis silika yang khusus digunakan sebagai pengisi kolom tipe dipercepat. Silika gel H diisikan ke dalam bagian penampung kolom sedikit demi sedikit sambil dimampatkan oleh vakum serta ditekan oleh peralatan khusus. Silika gel H diisikan hingga mencapai tiga per lima bagian dari tinggi kaca kolom, lalu campuran serbuk ekstrak dalam silika gel diletakkan di atasnya sambil tetap menyalakan vakum dan meratakan pinggirannya. Di atas campuran serbuk ekstrak ini diletakkan kertas saring. Pertama-tama, n-heksana dimasukkan ke dalam kolom kromatografi untuk membasahi ekstrak serta silika gel H. Eluen yang dipilih untuk mengelusi kolom kromatografi berdasarkan gradien, yaitu kepolaran rendah menuju kepolaran tinggi sehingga digunakan kombinasi antara n-heksana, etil asetat maupun etanol. Jumlah eluen dari tiap tingkat kepolaran ini sebanyak 200 ml. Eluen yang dipilih mengalami peningkatan kepolaran setiap sepuluh persen, yaitu dimulai dari n-heksana 100%, n-heksana-etil asetat 90:10, n-heksana-etil asetat 80:20, n-heksana-etil asetat 70:30, n-heksana-etil asetat 60:40, n-heksana-etil asetat 50:50, n-heksana-etil asetat 40:60, n-heksana-etil asetat 30:70, n-heksana-etil asetat 20:80, n-heksana-etil asetat 10:90, dilanjutkan dengan etil asetat 100%, etil asetat-etanol 90:10, etil asetat-etanol 80:20, etil asetat-etanol 70:30, etil asetat-etanol 60:40, etil asetat-etanol 50:50, etil asetat-etanol 40:60, etil asetat-etanol 30:70, etil asetat-etanol 20:80, etil asetat-etanol 10:90, dan etanol 100%. Jadi, elusi oleh kolom kromatografi tipe dipercepat ini memiliki 21 fraksi berdasarkan eluen yang digunakan.

Setelah fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom tipe dipercepat berada pada kondisi yang cukup pekat, setiap fraksi tersebut diamati pola kromatogramnya pada lempeng KLT berdasarkan fluoresensi pada sinar UV 254 dan 366 nm. Dua puluh satu fraksi yang diperoleh ditotolkan pada lempeng KLT. Dua belas fraksi dielusi oleh campuran eluen n-heksana-etil asetat 7:3, sedangkan sembilan fraksi lainnya dielusi oleh campuran etil asetat-etanol 7:3. Berdasarkan kemiripan pola kromatogram antara fraksi-fraksi tersebut, fraksi 1 hingga 12 digabungkan menjadi 5 fraksi, dinamakan CM<sub>1</sub>, CM<sub>2</sub>, CM<sub>3</sub>, CM<sub>4</sub>, CM<sub>5</sub>, dan fraksi 13 hingga 21 digabungkan menjadi 4 fraksi, dinamakan CM<sub>6</sub>, CM<sub>7</sub>, CM<sub>8</sub>, CM<sub>9</sub>. Pola kromatogram fraksi gabungan ini dapat dilihat pada Gambar 3. Sembilan fraksi ini kemudian diuji aktivitas antioksidannya, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Berat tiap fraksi yang diperoleh dari fraksinasi ekstrak aktif melalui kolom dipercepat dapat dilihat pada Tabel 6.



Keterangan:

(a) Profil KLT fraksi CM<sub>1</sub>, CM<sub>2</sub>, CM<sub>3</sub>, CM<sub>4</sub>, CM<sub>5</sub> (n-heksana-etil asetat 7:3)

(b) Profil KLT fraksi CM<sub>6</sub>, CM<sub>7</sub>, CM<sub>8</sub>, CM<sub>9</sub> (etil asetat-etanol 7:3)

**Gambar 3** Profil KLT Fraksi Ekstrak Etanol dengan Fase Diam Silika Gel F<sub>254</sub> dan Penampak Bercak Sinar UV 366 nm

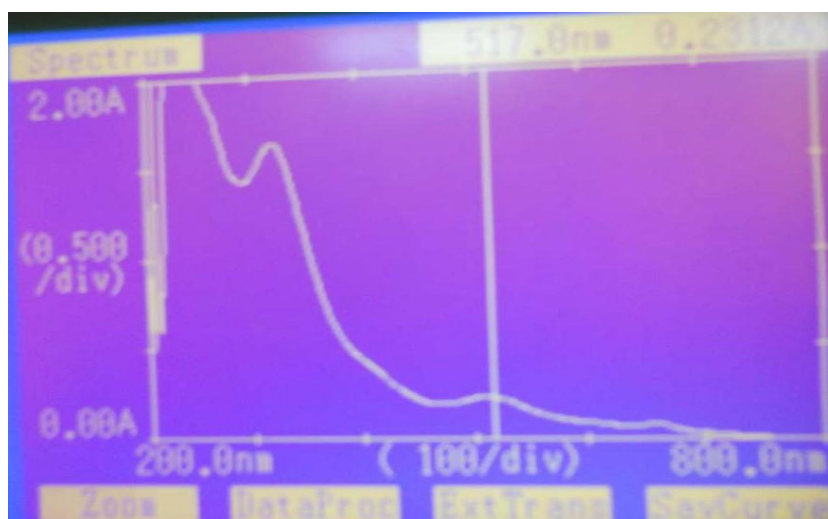
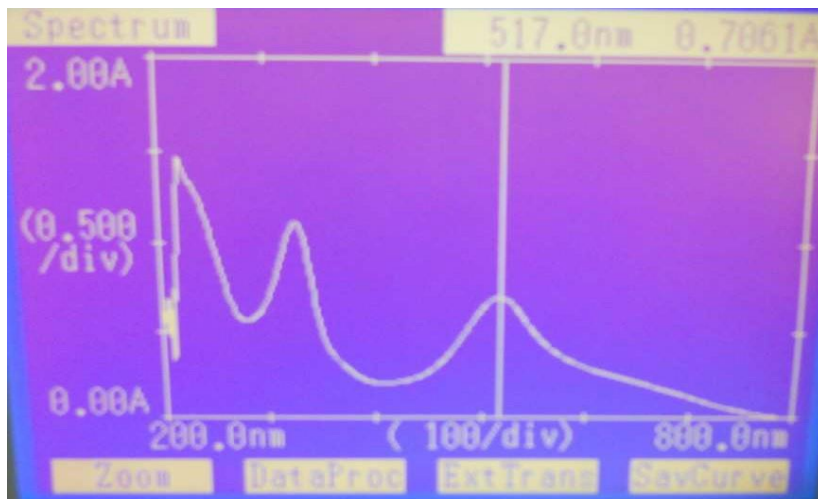
**Tabel 5.** Berat Fraksi Ekstrak Hasil Fraksinasi Kolom Dipercepat

No.	Fraksi Ekstrak	Berat Fraksi (g)
1.	Fraksi CM <sub>1</sub>	0,1400
2.	Fraksi CM <sub>2</sub>	0,2560
3.	Fraksi CM <sub>3</sub>	0,2437
4.	Fraksi CM <sub>4</sub>	0,5970
5.	Fraksi CM <sub>5</sub>	0,5797
6.	Fraksi CM <sub>6</sub>	6,9998
7.	Fraksi CM <sub>7</sub>	14,4483
8.	Fraksi CM <sub>8</sub>	7,5851
9.	Fraksi CM <sub>9</sub>	5,6633

d. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Ekstrak

Fraksinasi melalui kolom kromatografi menghasilkan 21 fraksi yang kemudian dielusi pada lempeng KLT dengan eluen yang sesuai. Berdasarkan pengamatan fluoresensi bercak yang timbul pada panjang gelombang UV 366 nm, semua fraksi yang ada dapat digabungkan menjadi sembilan fraksi. Lalu, sembilan fraksi ini diuji aktivitas antioksidan secara kualitatif seperti pada pengujian ekstrak. Sembilan fraksi ini dibuat dalam konsentrasi yang seragam, lalu ditotolkan pada

kertas kromatografi dalam jumlah sama banyak. Setelah disemprot dengan larutan DPPH dalam etanol, akan tampak bercak yang berwarna putih hingga kekuningan dengan latar belakang warna ungu. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa dari kesembilan fraksi yang diuji, terdapat enam fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan. Hasil uji kualitatif ini dapat dilihat pada Gambar 4. Fraksi-fraksi aktif ini adalah fraksi CM<sub>4</sub>, CM<sub>5</sub>, CM<sub>6</sub>, CM<sub>7</sub>, CM<sub>8</sub>, CM<sub>9</sub>. Seperti pada pengujian ekstrak, keenam fraksi ini juga diuji menggunakan spektrofotometer. Pada proses optimasi panjang gelombang, larutan DPPH menunjukkan serapan optimum pada panjang gelombang 517 nm sehingga pengukuran serapan fraksi dilakukan pada panjang gelombang 517 nm (Gambar 4).



**Gambar 4** Spektrum Serapan Larutan DPPH pada Panjang Gelombang

## Optimum (517 nm)

Keterangan:

- a. Spektrum serapan larutan blanko DPPH dalam etanol pada pengujian fraksi ekstrak.  
Larutan blanko DPPH dalam etanol dengan konsentrasi dalam tabung 25,500  $\mu\text{g/ml}$  menunjukkan serapan sebesar 0,7061 yang diukur oleh spektrofotometer UV-Vis 1601 Shimadzu
- b. Spektrum serapan larutan DPPH yang ditambahkan larutan fraksi CM<sub>6</sub> pada pengujian fraksi ekstrak  
Larutan DPPH dalam etanol yang ditambahkan larutan fraksi CM<sub>6</sub> dengan konsentrasi dalam tabung 109,500  $\mu\text{g/ml}$  menunjukkan serapan sebesar 0,2312 yang diukur oleh spektrofotometer UV-Vis 1601 Shimadzu

Hasil uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif fraksi ekstrak daun *C. frutescens* L. menunjukkan bahwa terdapat satu fraksi ekstrak yang paling aktif dari keenam fraksi lainnya, yaitu fraksi CM<sub>6</sub>. Fraksi ekstrak yang paling kuat aktivitas antioksidannya ini berasal dari elusi kolom kromatografi yang menggunakan eluen etil asetat-etanol 8:2 dan 7:3. Nilai IC<sub>50</sub> fraksi yang paling aktif ini adalah 72,07  $\mu\text{g/ml}$ . Nilai IC<sub>50</sub> fraksi CM<sub>6</sub> lebih besar dari ekstrak etanol disebabkan pada ekstrak etanol masih banyak komponen yang beraktivitas sinergis sebagai antioksidan. Fraksinasi ekstrak membagi ekstrak ke dalam berbagai fraksi yang mengandung komponen yang lebih sederhana dibandingkan komponen ekstrak pada awalnya. Fraksinasi menyebabkan pemisahan komponen-komponen ekstrak yang semula bersinergi sehingga pada fraksi ekstrak mengandung komponen yang memiliki aktivitas antioksidan tertentu. Nilai IC<sub>50</sub> fraksi CM<sub>6</sub> sebesar 72,07  $\mu\text{g/ml}$  menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat (Blois, 1958). Secara berturut-turut nilai IC<sub>50</sub> fraksi ekstrak dari yang paling aktif antara lain, 72,07; 95,28; 106,05; 116,29; 149,73 dan 353,31  $\mu\text{g/ml}$ . Data uji kuantitatif fraksi ekstrak ini dirangkum dalam Tabel 6.

**Tabel 6** Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi-Fraksi Ekstrak etanol

*Capsicum frutescens* L.

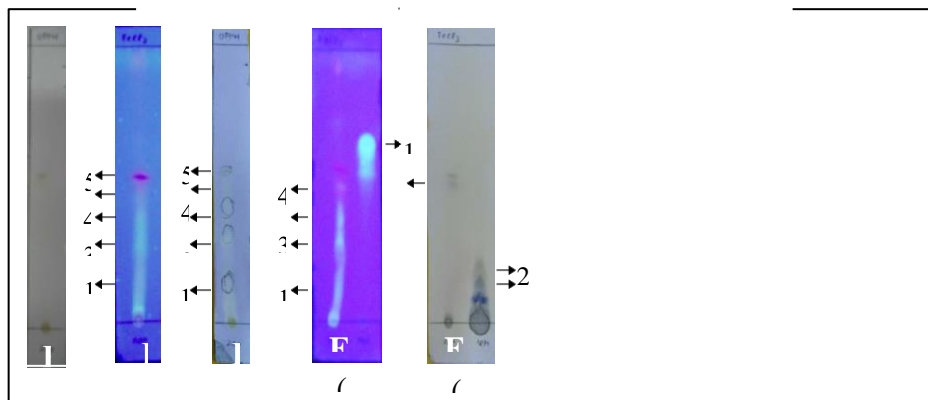
Sampel	Absorbansi Blanko	Larutan Uji		% Inhibisi	Persamaan linier	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
		Konsentrasi dalam tabung ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi			
Fraksi CM <sub>4</sub>	0,7061	42,600	0,6919	2,01	$y = 0,161x - 6,883$ $R^2 = 0,900$	353,31
		85,200	0,6718	4,86		
		106,500	0,6564	7,04		
		127,800	0,5902	16,41		
		170,400	0,5576	21,03		
Fraksi CM <sub>5</sub>	0,6237	13,375	0,6182	0,88	$y = 0,470x - 4,657$ $R^2 = 0,989$	116,29
		26,750	0,5715	8,37		
		38,520	0,5387	13,63		

		53,500	0,4845	22,32		
		64,200	0,4750	23,84		
		80,250	0,4167	33,19		
Fraksi	0,7061	36,500	0,5099	27,79	$y = 0,507x +$	72,07
CM <sub>6</sub>		54,750	0,3789	46,34	13,46	
		73,000	0,3456	51,06	$R^2 = 0,946$	
		87,600	0,2954	58,16		
		109,500	0,2312	67,26		
Fraksi	0,6237	24,000	0,5861	6,03	$y = 0,551x -$	95,28
CM <sub>7</sub>		32,000	0,4987	20,04	2,497	
		60,000	0,4252	31,83	$R^2 = 0,935$	
		72,000	0,3899	37,49		
		80,000	0,3754	39,81		
Fraksi	0,6237	24,300	0,5360	14,06	$y = 0,463x +$	106,05
CM <sub>8</sub>		32,400	0,5219	16,32	0,899	
		40,500	0,5118	17,94	$R^2 = 0,958$	
		60,750	0,4578	26,60		
		72,900	0,4147	33,51		
		80,000	0,3674	41,09		
Fraksi	0,6237	20,400	0,5801	6,99	$y = 0,331x +$	149,73
CM <sub>9</sub>		27,200	0,5669	9,11	0,440	
		34,000	0,5481	12,12	$R^2 = 0,991$	
		51,000	0,5104	18,17		
		61,200	0,4998	19,87		
		68,000	0,4800	23,04		

Fraksi teraktif ditotolkan pada beberapa lempeng KLT lalu dielusi bersamaan dengan campuran eluen yang dapat memisahkan bercak dengan baik, yaitu n-heksana-etil asetat 3:7. Setiap lempeng yang telah dikeringkan dan dilihat fluoresensinya di bawah sinar ultraviolet lalu disemprot dengan pereaksi semprot yang berbeda-beda. Standar atau pembanding untuk tiap golongan yang diidentifikasi juga ditotolkan di samping fraksi teraktif. Pembanding untuk uji flavonoid adalah kuersetin, pembanding untuk uji alkaloid adalah piperin, pembanding untuk uji fenol adalah daun teh, pembanding untuk uji terpen adalah caryophily flos, pembanding untuk uji saponin adalah liquiritae radix, pembanding untuk uji antrakuinon adalah rhei radix. Lempeng disemprot dengan penampak bercak DPPH dalam etanol, aluminium (III) klorida 5% dalam etanol, Dragendorff, anisaldehyd-asam sulfat, vanillin-asam sulfat, kalium hidroksida, dan besi (III) klorida 10%. Hal ini bertujuan untuk menunjukkan golongan senyawa beraktivitas antioksidan secara spesifik. Elusi fraksi teraktif pada eluen n-heksana-etil asetat 3:7 menunjukkan pemisahan 5 bercak berfluoresensi di bawah sinar UV 366 nm dengan nilai Rf berturut-turut 0,13; 0,29; 0,38; 0,51; 0,53 (bercak 1 hingga 5) yang dapat dilihat pada Gambar 5. Pada lempeng yang disemprot DPPH terdapat 5 bercak berwarna putih hingga kuning dengan nilai Rf berturut-turut 0,13; 0,29; 0,38; 0,51; 0,53 (bercak 1 hingga 5) yang dapat dilihat pada Gambar 5.c. Berdasarkan



penyemprotan lempeng oleh aluminium (III) klorida, bercak dengan nilai Rf 0,13; 0,29; 0,38; 0,51 diidentifikasi sebagai flavonoid karena menunjukkan fluoresensi kuning intensif di bawah sinar UV 366 nm (H. Wagner et al, 1984). Kuersetin (bercak 1') tampak pada Rf 0,65. Fluoresensi keempat bercak ini dapat dilihat pada Gambar 4.6.d. Bercak dengan nilai Rf 0,51 (bercak 1) juga menunjukkan hasil positif fenol pada penyemprotan lempeng oleh besi (III) klorida (Gambar 5.e). Daun teh menunjukkan pemisahan bercak dengan nilai Rf 0,14 (bercak 1') dan 0,2 (bercak 2').



Keterangan:

F : Fraksi CM<sub>6</sub>

SK : Standar kuersetin ST :

Standar daun teh

Nomor 1 hingga 5 menunjukkan bercak yang terbentuk

- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar biasa
- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 366 nm
- Setelah disemprot DPPH dalam etanol, pengamatan pada sinar biasa
- Setelah disemprot AlCl<sub>3</sub> 5% dalam etanol, pengamatan pada sinar UV 366 nm
- Setelah disemprot FeCl<sub>3</sub> 10%, pengamatan pada sinar biasa

**Gambar 5** Pola Kromatogram Fraksi CM<sub>6</sub> dengan Fase Diam Silika Gel F<sub>254</sub> dan Eluen n-Heksana-Etil Asetat 3:7

Tujuan dilakukannya penapisan fitokimia adalah untuk mengidentifikasi golongan senyawa tertentu yang terdapat dalam ekstrak n-heksana, etil asetat, etanol, dan fraksi ekstrak yang paling aktif dari daun *C. frutescens* L. Hasil penapisan fitokimia dapat digunakan untuk mengetahui jenis senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, baik pada ekstrak maupun fraksi ekstrak.

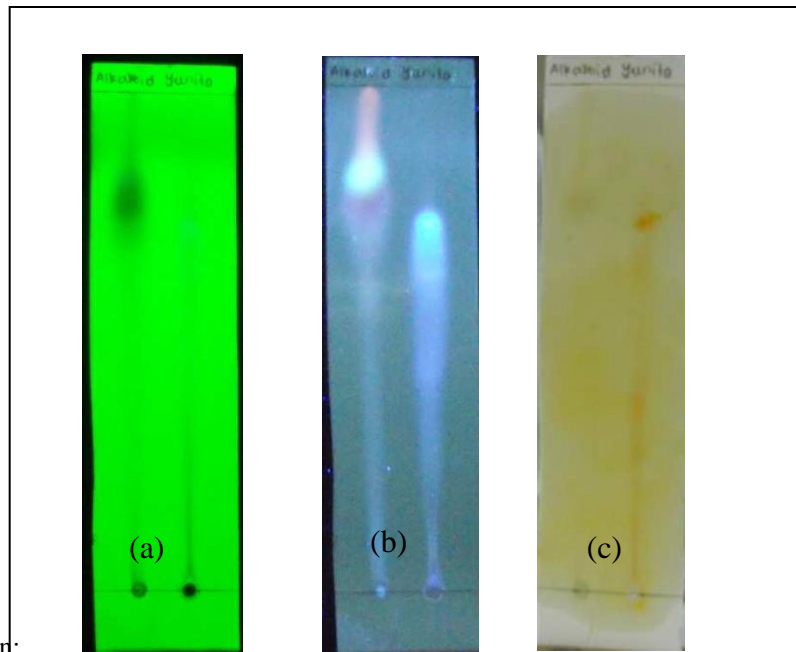
Identifikasi golongan senyawa pada ekstrak dilakukan menggunakan pereaksi kimia. Dari ketiga ekstrak yang diuji, yang menunjukkan hasil positif adalah alkaloid pada n heksan, etil asetat, dan etanol. Flavonoid menunjukkan hasil positif pada etil asetat. Saponin menunjukkan hasil negatif pada ketiga pelarut. Triterpenoid dan steroid menunjukkan hasil positif pada pelarut n heksana dan etanol, tetapi menunjukkan hasil negative pada etil asetat. Kuinon menunjukkan hasil positif pada n heksana dan etil asetat, tetapi menunjukkan hasil negative pada pelarut etanol. Fenol hanya menunjukkan hasil positif pada etil asetat, sedangkan pada pelarut n heksana dan etanol menunjukkan hasil negative (Tabel 8)

Tabel 7. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Daun *Capsicum frutescens* L.

Analisis Fitokimia	Hasil Ekstraksi			Keterangan
	N Heksan	Ethanol	Etil Asetat	
Alkaloid	+	+	+	Mengandung alkaloid
	(jernih)	(jernih)	(jernih)	
Flavonoid	-	-	+	Mengandung Flavonoid
	(tidak berwarna)	(tidak berwarna)	(warna kuning kehijauan)	
Saponin	-	-	-	Tidak mengandung Saponin karena tidak muncul busa
Triterpenoid dan Steroid	+	+	-	Mengandung Triterpenoid dan Steroid
	(merah)	(hijau)		
Kuinon	+	-	+	Mengandung kuinon
	(hijau kekuningan)	(tidak berwarna)	(kuning jernih)	
Fenol	-	-	+	Mengandung Fenol
	(kuning kecoklatan)	(kuning emas)	(berwarna hijau kecoklatan)	

Uji identifikasi alkaloid pada ekstrak dilakukan dengan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff. Simplisia standar untuk uji identifikasi alkaloid

adalah kulit batang kina. Hasil identifikasi alkaloid pada ketiga ekstrak dan fraksi teraktif adalah positif karena terbentuk endapan berwarna. Identifikasi fraksi teraktif dilanjutkan dengan elusi pada KLT oleh eluen diklormetan-etanol (85:15) lalu disemprot Dragendorff. Setelah disemprot Dragendorff, fraksi teraktif membentuk bercak berwarna jingga atau hasilnya positif (H. Wagner et al, 1984). (Gambar 6).



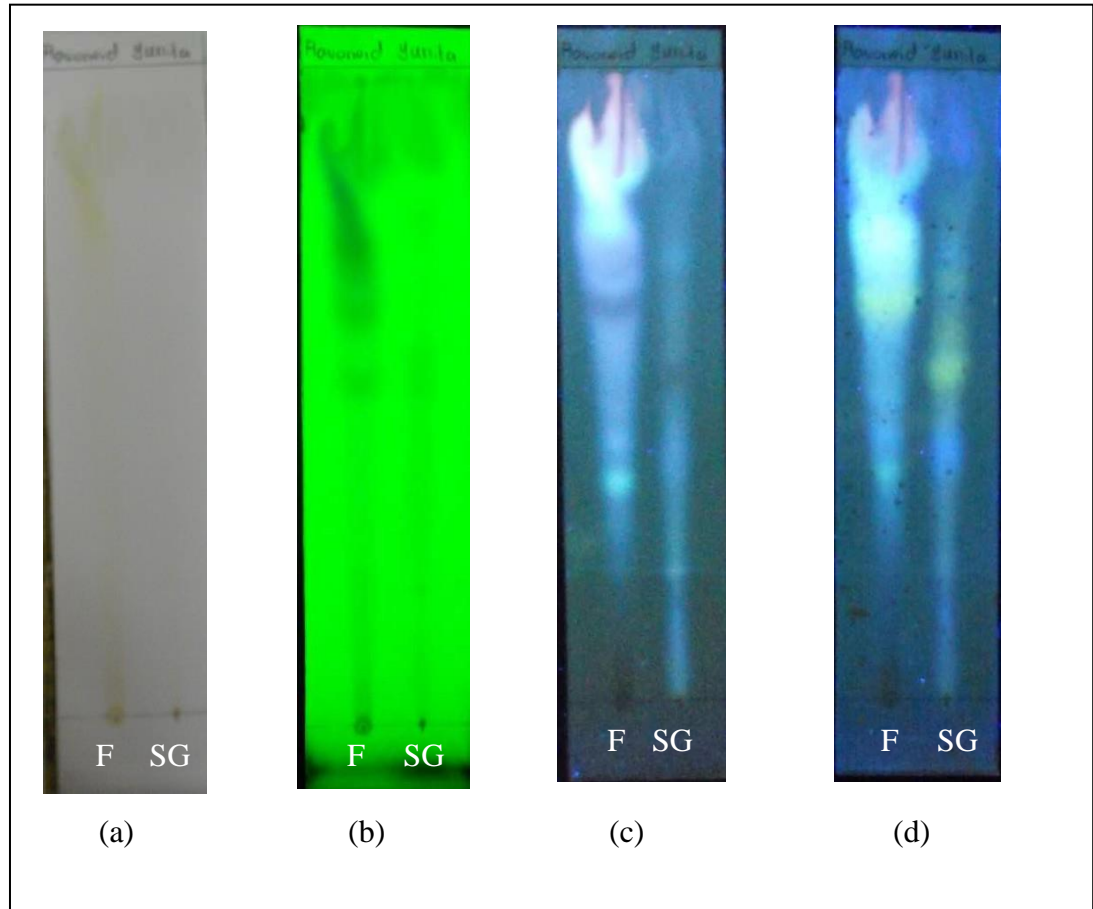
Keterangan:

F : Fraksi CM<sub>6</sub>

SB : Standar kulit batangkina

- a. Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 254 nm
- b. Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 366 nm
- c. Setelah disemprot Dragendorff, pengamatan pada sinar biasa

Uji identifikasi flavonoid dilakukan dalam tiga rangkaian reaksi, yaitu reaksi dengan serbuk magnesium dalam asam klorida, serbuk zink dalam asam klorida, dan serbuk asam borat dan asam oksalat yang dilanjutkan dengan pengamatan pada sinar ultraviolet 366 nm. Diantara ketiga ekstrak daun *C. frutescens* L. hanya ekstrak etil asetat yang memberikan hasil positif. Terbentuk larutan berwarna jingga kemerahan ketika direaksikan dengan serbuk zink dalam asam klorida dan larutan berwarna kuning ketika direaksikan dengan serbuk magnesium dalam asam klorida. Fraksi teraktif juga menunjukkan hasil positif, yaitu membentuk larutan berwarna merah muda pada reaksi dengan serbuk zink dan larutan berfluoresensi kuning kehijauan di bawah sinar UV 366 nm. Selain itu, fraksi teraktif diidentifikasi menggunakan lempeng KLT. Sebagai pembanding pada KLT, juga digunakan daun gandarusa. Fraksi teraktif dielusi menggunakan campuran eluen BAW (butanol-asam asetat glasial-*aquadest*) 4:1:5 (H. Wagner et al, 1984). Setelah lempeng dikeringkan, lempeng disemprot dengan larutan aluminium (III) klorida dan diamati fluoresensinya (Gambar 7).



Keterangan:

F : Fraksi  $CM_6$

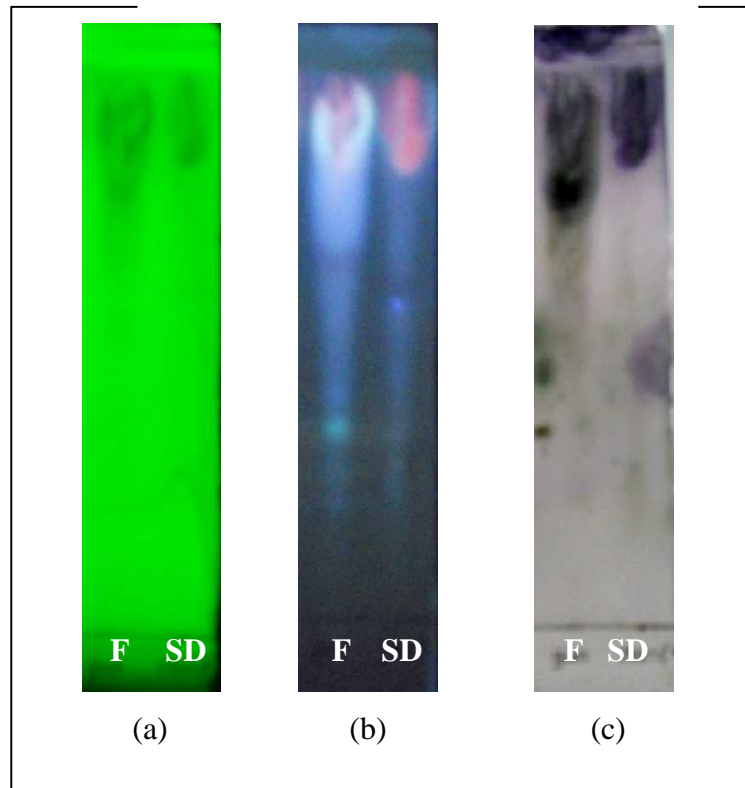
SG : Standar daun gandarusa

- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar biasa
- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 254 nm
- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 366 nm
- Setelah disemprot  $AlCl_3$ , pengamatan pada sinar UV 366 nm

**Gambar 7.** Hasil Identifikasi Golongan Flavonoid Fraksi  $CM_6$  dengan Fase Diam Silika Gel  $F_{254}$  dan Eluen BAW 4:1:5

Uji identifikasi saponin dilakukan melalui pengocokan di mana ekstrak dilarutkan dalam 10 ml akuades panas, dikocok kuat selama sepuluh detik, lalu ditunggu selama 10 menit dan ditambahkan satu tetes HCl 2 N. Simplisia standar yang digunakan adalah daun kumis kucing. Semua ekstrak dan fraksi teraktif menunjukkan hasil negatif. Selain itu, fraksi teraktif diuji menggunakan lempeng KLT. Lempeng dielusi dengan campuran eluen BAW 5:1:4 dan disemprot dengan larutan anisaldehid-asam sulfat (H. Wagner et al, 1984). Setelah itu, lempeng dipanaskan pada suhu 100-110°C selama 5 hingga 10 menit. Hasil identifikasi negatif, yaitu bercak berwarna

kehitaman berbeda dengan bercak standar yang berwarna keunguan



Keterangan:

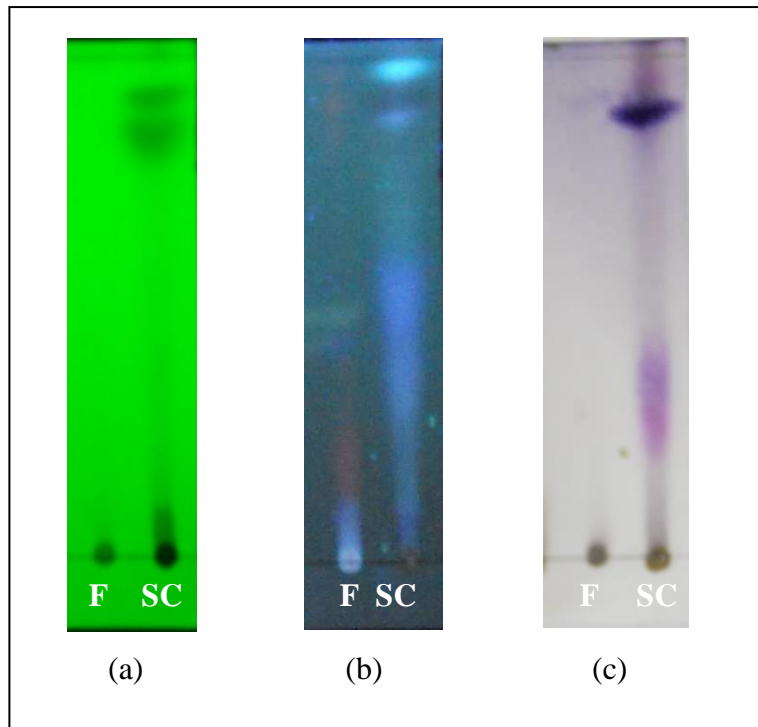
F : Fraksi CM<sub>6</sub>  
SD : Standar daun kumiskucing

- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 254 nm
- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 366 nm
- Setelah disemprot anisaldehyd-asam sulfat, pengamatan pada sinar biasa

**Gambar 8** Hasil Identifikasi Golongan Saponin Fraksi CM<sub>6</sub> dengan Fase Diam Silika Gel F<sub>254</sub> dan Eluen BAW 5:1:4

Pada uji identifikasi triterpenoid dan steroid, ekstrak n-heksana dan etil asetat daun *C.frutescens* L. menunjukkan hasil positif terhadap penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat yaitu pembentukan warna biru kehijauan. Hasil positif ditunjukkan melalui pembentukan warna biru kehijauan ataupun merah kehijauan (Farnsworth, 1966). Pembentukan warna yang terjadi pada simplisia standar terpen (bunga cengkeh) sendiri berupa merah kehijauan. Sedangkan uji identifikasi terpen pada fraksi teraktif menunjukkan hasil negatif. Identifikasi terpen pada fraksi teraktif dilanjutkan dengan KLT. Lempeng yang telah ditotol fraksi dielusi oleh campuran eluen n-heksana-etil asetat 7:3 kemudian disemprot larutan anisaldehyd-asam sulfat. Setelah itu, lempeng dipanaskan pada suhu 100-110°C selama 5 hingga 10 menit. Hasil positif terpen ditandai warna ungu atau kuning (H. Wagner et al, 1984).

Pembacaan hasil diamati secara visual dibandingkan dengan warna bercak standar (Gambar 9). Hasilnya juga negatif seperti pada reaksi menggunakan pereaksi kimia.



Keterangan:

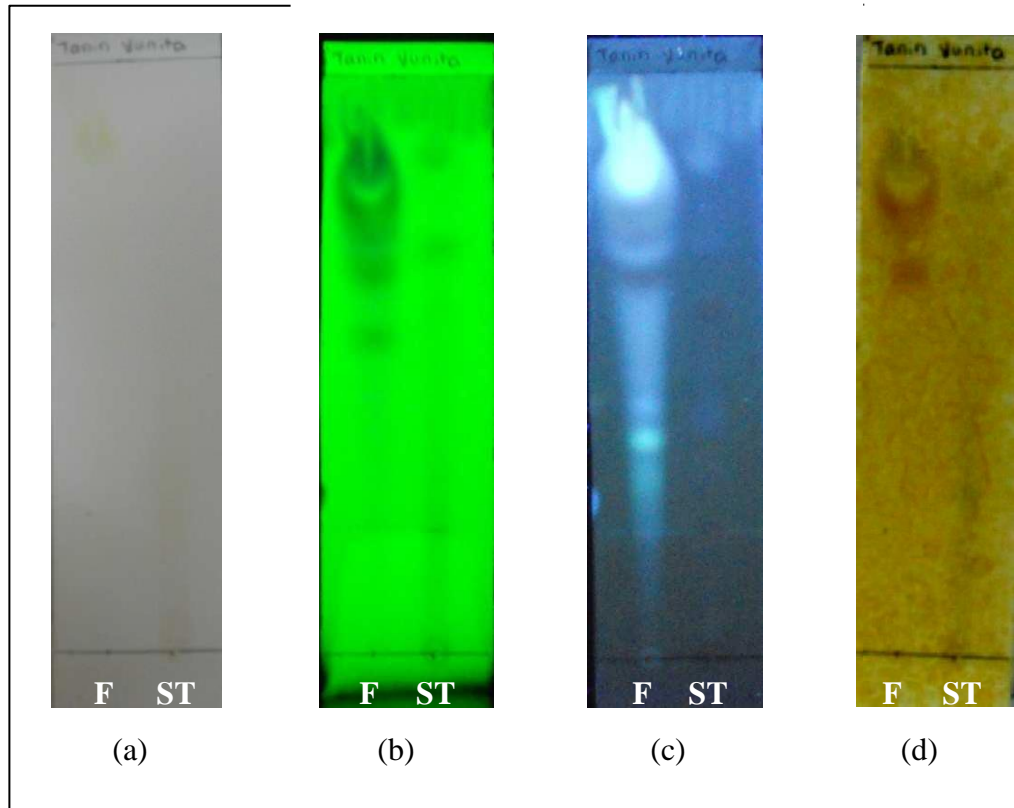
F : Fraksi CM<sub>6</sub>  
 SC : Standar bunga cengkeh

- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 254 nm
- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 366 nm
- Setelah disemprot anisaldehyd-asam sulfat, pengamatan pada sinar biasa

**Gambar 9** Hasil Identifikasi Golongan Triterpenoid Fraksi CM<sub>6</sub> dengan Fase Diam Silika Gel F<sub>254</sub> dan Eluen n-Heksana-Etil Asetat 7:3

Uji identifikasi antrakuinon didasarkan pada reaksi hidrolisis menggunakan asam sulfat yang disertai panas untuk memutus ikatan antara aglikon (antrakuinon) dan glikon (gula). Simplisia standar yang digunakan pada uji antrakuinon adalah rhei radix. Semua ekstrak dan fraksi teraktif memberikan hasil negatif.

Identifikasi fenol pada fraksi teraktif sendiri dilanjutkan menggunakan lempeng KLT. Standar yang digunakan adalah daun teh. Lempeng dielusi oleh campuran eluen BAW 4:1:5, kemudian disemprot dengan larutan FeCl<sub>3</sub> 10% (H. Wagner et al, 1984). Pada lempeng yang telah dielusi dan disemprot diamati adanya bercak berwarna hijau kehitaman yang menandakan uji fenol positif.



Keterangan:

F : Fraksi CM<sub>6</sub>

ST : Standar daun teh

- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar biasa
- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 254 nm
- Sebelum disemprot, pengamatan pada sinar UV 366 nm
- Setelah disemprot FeCl<sub>3</sub>, pengamatan pada sinar biasa

**Gambar.10** Hasil Identifikasi Golongan Fenol Fraksi CM<sub>6</sub> dengan Fase Diam Silika Gel F<sub>254</sub> dan Eluen BAW 4:1:5



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 1. Kesimpulan

- a) Konsentrasi ekstrak etanol yang paling efektif adalah 80% untuk bakteri *S. aureus*, 90% untuk *Pseudomonas sp*, dan 100% untuk *E. coli* dimana zona hambat berturut-turut adalah 2.94 cm, 2.14 cm, dan 1.58 cm
- b) Ekstrak Daun *C. frutescent* L. memiliki aktivitas antioksidan dengan ekstrak kuat dan dan teraktif adalah etanol dengan  $IC_{50}$  adalah sebesar 45.26  $\mu\text{g/ml}$
- c) Ekstrak Daun *C. frutescent* L. mengandung zat aktif berupa alkaloid, flavonoid, triterpenoid steroid, kuinon, fenol, tetapi tidak terbukti mengandung saponin

## BAB V

## DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., dkk. 2008. “Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolat Total Likopen Pada Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum* L)”. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. Vol .13, No. 1. 2008
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajava* . **J Bioscientiae**. 1(1):31-38
- Biswas, A.K., M.K. Chatli, and J. Sahoo. 2012. Anti oxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) Leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground Pork meat during refrigeration storage. **J. Food Chem.** (133):467-472.
- Blois, M. S. (1958). *Antioxidant Determinations By The Use Of A Stable Free Radical* oleh Nature 181: 1199- 1200
- Branen A.L dan Davidson PM. 1993. *Antimicrobial in Food*. Marcel Dekker. New York
- Cahyono, B. 2003. Cabe rawit putih. Yogyakarta: Kanisius.p.28-32.
- Cushnie T., Lamb A.J., 2005. Antimicrobial activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*,26: 343- 356
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia jilid IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1061, 1063.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Material Medika Indonesia jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 333-334.
- Departemen Kesehatan RI. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Infeksi Pernapasan*. 2015
- Dewi, F.K. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia, Linnaeus) Terhadap Bkteri Pembusuk Daging Segar (Skripsi)*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universsitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Dzen, S.M, dkk, 2003, **Bakteriologi Medik**, Bayu Media Publishing, Malang
- Entjang, Indan, 2003, **Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan dan sekolah tenaga kesehatan yang sederajat**, PT.Citra Aditya Bakti, Bandung
- Faradisa, Maria, 2008, “**Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin Dari Tanaman Blimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi Linn)**”, *Skripsi-UIN Malang*, Malang
- Fardiaz, S., 1993, **Analisa Mikrobiologi Pangan**, Raja Grafindo Perkasa, Jakarta.
- Gurib-Fakim A (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med* 27: 1 - 93

- Halliwell, Barry. (2002). *Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and In Vivo, Handbook of Antioxidant* 2<sup>nd</sup> ed. New York: Marcel Dekker, 9.
- Halliwell, B and Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford University Press, New York.
- Hanani, E, A. Mun'im, R. Sekarini. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. dari kepulauan seribu. *Majalah kefarmasian*, 2 (3) : 127-133.
- Harbourne, J.B., 2002, **Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**, Diterjemahkan Oleh K. Padmawinata Dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung,
- Hartini, Y, C.J. Soegihardjo, A.I.C.Putri, M.I.A. Setyorini, D.Kurniawan. 2008. Daya antibakteri campuran ekstrak buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill) dan kulit batang pulasari (*Alyxia reinwardtii* BL). *Penelitian* Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.p.38-40
- Houghton, P.J dan Raman. 1998. *Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extract*. Chapman & Hall. London.
- Jawetz, E., Melnick, J., dan Adelberg, E., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, 362, Salemba Medika, Jakarta.
- Jenie, B.S.L. dan Kuswanto. 1994. Aktivitas antimicroba dari pigmen angkak yang diproduksi oleh *Monasnrns purpuracs* terhadap beberapa microba patogen dan merusak makanan. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Permi*, hal. 53-62.
- Juniarti, D. Osmeli, dan Yuhernita. 2009. kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl) dari ekstrak Daun saga (*Abrus precatorius* L.). *MAKARA SAINS*, 13(1) : 50-54
- Kanazama, A.T. Ikeda T, Endo. 1995. A Novel approach to made of action on cationic biocides: morfological effect on antibacterial activity. *J Appl. Bacteriol*, 78:55- 60
- Krisnaningsih FMM, Widya A, Wibowo MH. 2005. Uji sensitivitas isolat E. coli patogen pada ayam terhadap beberapa jenis antibiotik. *J Sain Vet* 1(1): 13-18.
- Lambert M, et al. 1997. Genetic analysis of regulatory mutants affecting synthesis of extracellular proteinases in the yeast *Yarrowia lipolytica*: identification of a RIM101/pacC homolog. *Mol Cell Biol* 17(7):3966-76
- Mardawati, E, dkk. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Halaman 4.

- Molyneux, P.2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 26, 211–219.
- Nagappan, T., P. Ramasamy, M.E.A. Wahid, T.C. Segaran, and C.S. Vairappan. 2011. Biological activity of carbazole alkaloids and essential oil of *Murraya koenigii* against antibiotic resistant
- Ningsih, S.2010. Optimasi pembuatan bioplastik polihidroksialkanoat menggunakan bakteri mesofilik dan media limbah cair pabrik kelapa sawit. (Tesis). Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan. 136 Hlm.
- Ningtyas, Rina. 2010. Uji Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith) Sebagai Pengawet Alami Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* ". Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah
- Norell, A. S. dan Messley. 1996. *Microbiologi I-laboratory* Mamnl. USA
- Palmer, W. C. (1965). Meteorological drought. Research Paper No. 45. U.S. Weather Bureau, Washington, D.C.
- Palmer, A. Smith-, Stewart J. and Fyfe, L.1998. "Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens". *Letters in Applied Microbiology* 1998, 26, 118–122
- Pelczar, Michael, J., E.C.S Chan. 1988. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Jakarta : UI Press.
- Pitojo, S. 2003. Benih Cabe. Yogyakarta: Kanisius.p.23-24.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., 2001, *Antioxidants in Food, Practical Applications*, 1-123, Wood Publishing Limited, Cambridge, England
- Radji, M. 2011. **Mikrobiologi. Buku Kedokteran.** ECG, Jakarta.
- Rahim, Abdul., Wahyudin, Indra., Lusyana, Endang. 2014. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Cabe rawit putih (*Capsicum frutescens* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Iji pendahuluan potensi tanaman obat Tradisional Sebagai Alternatif Pengobatan Infeksi Saluran Pernafasan. *Skripsi*
- Rastina. 2015. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.*". *Jurnal Kedokteran Hewan* 9(2). Bogor. P.185-188
- Refdanita, Maksum R, Nurgani, Endang. 2004. Pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif rumah sakit fatmawati jakarta tahun 2001 – 2002. *Makara kesehatan*, Vol. 8, No. 2, Desember : 41-48. Jakarta
- Rohman, A., Riyanto, S., dan Utari, D., 2006, Antioxidant activities, total phenolic and flavonoid contents of ethyl acetate extract of Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L) fruit and its fractions, *Majalah Farmasi Indonesia* 17, 136-142.

- Rukmana, 2002. Bertanam Petsai dan Sawi. Kanisius, Yogyakarta
- Setiadi, 1987. Bertanam Cabe. Jakarta: Penebar Swadaya.p.27-29.
- Setyawati, Agustina. 2015. “Peningkatan Resistensi Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin Menggunakan Metode Adaptif Gradual”. *Jurnal Farmasi Indonesia* 7(3). Universitas Sanata Dharma.
- Susanto, Eko. 2014.” *Escherichia coli* yang Resisten Terhadap Antibiotik yang Diisolasi dari Ayam Broiler dan Ayam Lokal di Kabupaten Bogor”.*Thesis*. Institut Pertanian Bogor
- Sutamihardja, R.T.M., Citreksoko, P.S., Ossia, F., dan Wardoyo, S.E. (2006). Isolasi dan identifikasi senyawa fenol dari daun salam (*syzygium polyanthum*, Wight Walpers) sebagai senyawa antibakteri. *Jurnal Nusa Kimia*, 6(1), 48-60
- Syahrurachman, A., dkk., **Buku ajar Mikrobiologi Kedokteran**, Bina Rupa Aksara, Jakarta
- Wagner, H., Blatt, S., and Zgalnski, E. M. (1984). *Plant Drug Analysis*. New York: Springer-Verlag, 54, 164, 226.
- Vandepitte, S. 2005. **Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologis Klinis**. Edisi 2. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Widianti, A. dan Suhardjono, 2010, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST), Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- Wijayakusuma, H., Dalimartha, S., Wirian, A.S. 1992. “Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia”. Jilid I Jakarta: Pustaka Kartini.p.21-25.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius. Yogyakarta
- Yunita. 2012.Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Ekstrak Daun Cabe rawit putih (*Capsicum frutescens L.*) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*.
- Yuniwati, Risca. 2012 Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Cabe Rawit Merah (*Capsicum frutescens L.*) Pada Minyak Kacang Tanah. S1 thesis, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Zuhra, C.F, J.Br. Tarigan dan H. Sitohang. 2008. aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androginus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, : 7-10

A. Smith-Palmer<sup>1</sup> , J. Stewart<sup>2</sup> and L. Fyfe<sup>1,3</sup> <sup>1</sup>Department of Dietetics and Nutrition, Queen Margaret College, <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology,

University of Edinburgh Medical School, and 3Centre for Food Research, Queen

Margaret College, Edinburgh, UK









