### UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SKRINING POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL BUAH KURMA AJWA(Phoenix dactylifera)

#### **SKRIPSI**



#### **Disusun Oleh:**

# NUR ROHMAWATI KHOIROTUN NAZILAH NIM: H91214031

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2019

#### PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama

: Nur Rohmawati Khoirotun Nazilah

NIM

: H91214031

Program Studi: Biologi : 2014

Angkatan

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SKRINING POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL BUAH KURMA AJWA (Phoenix dactylifera)". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 23 Januari 2019

Nur Rohmawati K.N)

#### LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

: BAGUS RIDYAN S NAMA

NIM : H71214015

JUDUL

: PENGARUH PEMBERIAN BERBAGAI DOSIS EKSTRAK BUAH KURMA AJWA (*Phoenix dactylifera*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI KELENJAR MAMMAE MENCIT

(Mus musculus) BUNTING

Ini telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 23 Januari 2019

Dosen Pembimbing 1

Dosen Pembimbing 2

(Eva Agustina, M.Si) NIP.198908302014032008

(Nova Lusiana, M.Kes) NIP. 198111022014032001

#### PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Nur Rohmawati Khoirotun Nazilah ini telah dipertahankan di depan tim penguji skripsi di Surabaya, 31 Januari 2019

Mengesahkan, Dewan Penguji

Penguji I

Penguji II

(Eva Agustina, M.Si) NIP.198908302014032008

<u>Abr. Moch. Irfan Hadi, S.KM., M.KL.)</u> NIP. 198604242014031003

Penguji III

(Nova Lusiana, M.Keb) NIP. 198111022014032001

Penguji IV

M.Ag. 990022001

(Nirmala Fitria Firdhausi, M.Si) NIP. 198506252011012010

Mengetahui, Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Ampel Surabaya



### KEMENTERIAN AGAMA UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA

PERPUSTAKAAN
Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

## LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

| Nama   | : Nur Rohmawati Khoirotun Nazilah   |  |  |  |  |
|--|---|--|--|--|--|
| NIM  | : H91214031   |  |  |  |  |
| Fakultas/Iurusan : Sains dan Teknologi/Biologi   |   |  |  |  |  |
| E-mail address   | : khoirotunnazilah1112@gmail.com  |  |  |  |  |
| UIN Sunan Ampe<br>☑ Sekripsi ☐<br>yang berjudul:   | gan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan I Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:  Tesis  Desertasi  Lain-lain ()  TAS ANTIOKSIDAN DAN SKRINING POTENSI ANTIKANKER   |  |  |  |  |
| EKSTRAK N  | METANOL BUAH KURMA AJWA (Phoenix dactylifera)   |  |  |  |  |
| Perpustakaan UII<br>mengelolanya da<br>menampilkan/mer<br>akademis tanpa p<br>penulis/pencipta c | yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif in N Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan alam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dampublikasikannya di Internet atau media lain secara fulltext untuk kepentingar erlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagalan atau penerbit yang bersangkutan. |  |  |  |  |
|  | uk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UII<br>abaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipt<br>saya ini.   |  |  |  |  |
| Demikian pernyata  | nan ini yang saya buat dengan sebenarnya.   |  |  |  |  |
|  | Surabaya 15 Fabruari 2010   |  |  |  |  |

Surabaya, 15 Februari, 2019

Penulis

(Nur Rohmawati K.N)

#### Nur Rohmawati K.N

# ABSTRAK UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SKRINING POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL BUAH KURMA AJWA (Phoenix dactylifera)

Senyawa radikal bebas tidak dapat terlepas dari kehidupan kita dan dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Radikal bebas dalam tubuh dapat dikurangi dengan antioksidan. Buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dilaporkan memiliki kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan. Potensi ini perlu diteliti sehingga pemanfaatannya dapat lebih dikembangkan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak metanol buah kurma ajwa (Phoenix dactylifera). Ekstrak metanol buah kurma ajwa diperoleh melalui metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2 Difenil-1 Pikrihidrazil) menggunakan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm. Pengujian skrining potensi antikanker menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dengan variasi konsentrasi 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan yang dilakukan menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 4,650 ppm yang mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah kurma ajwa sangat kuat. Hasil skrinining potensi antikanker dengan metode BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tidak memiliki aktivitas antikanker dengan nilai LC<sub>50</sub>>1000 ppm yaitu sebesar 5.217, 138 ppm.

Kata Kunci: Phoenix dactylifera, antioksidan, BSLT.

#### **ABSTRACT**

## ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST AND SCREENING ANTICANCER POTENTIAL OF METHANOLIC EXTRACT AJWA DATE FRUITS

(Phoenix dactylifera)

Free radical compounds cannot be separated from our lives and can cause degenerative diseases. Free radicals in the body can be reduced by antioxidants. Ajwa date (Phoenix dactylifera) reposted contain active compounds which known have antioxidants activity. Ajwa date potency as antioxidants should be studied so the utilization of ajwa date could be developed. This study aimed to find out antioxidant activity and toxicity of methanolic extract of ajwa date fruits (Phoenix dactylifera). Methanolic extract of ajwa date fruits was obtained by maceration method with methanol solvent. Antioxidant activity testing was tested by DPPH (2,2 Diphenyl- 1 Picrylhydrazyl) method, with the varian concentration of 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm and 80 ppm. Anticancer potential screening testing was tested by BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. The result of antioxidant activity showed that IC50 of methanolic extract was 4,650, indicated that methanolic extract of ajwa date palm have very strong antioxidant activity. The result of screening anticancer potential test by BSLT methode show that methanolic extract of ajwa date fruits didn't have potential anticancer activity with  $LC_{50} > 1000$  ppm that was 5.217, 138 ppm.

Key words: Phoenix dactylifera, antioxidant, BSLT.

#### **DAFTAR ISI**

| HALAM    | AN JUDUL                                  | i    |
|----------|---|------|
| LEMBAI   | R PERNYATAAN KEASLIAN                     | ii   |
| LEMBAI   | R PERSETUJUAN PEMBIMBING                  | iii  |
| LEMBAI   | R PENGESAHAN                              | iv   |
| PERNYA   | ATAAN PUBLIKASI                           | v    |
|          | AK  |      |
| DAFTAF   | R ISI                                     | viii |
| BAB I P  | ENDAHULUAN                                |      |
| A.       | Latar Belakang                            |      |
| B.       | Rumusan Masalah                           |      |
| C.       | Tujuan Penelitian                         | 5    |
| D.       | Batasan Masalah                           |      |
| E.       | Manfaat Penelitian                        | 6    |
| BAB II 7 | ΓΙΝJAUAN PU <mark>ST</mark> AKA           |      |
| A.       | Kurma Ajwa ( <i>Phoenix dactylifera</i> ) |      |
|          | 1. Klasifikasi kurma ajwa                 |      |
|          | 2. Deskripsi buah kurma ajwa              |      |
|          | 3. Ekologi dan penyebaran                 | 8    |
|          | 4. Manfaat dan kandungan kurma            |      |
| B.       | Ekstraksi                                 |      |
|          | 1. Metode ekstraksi                       | 11   |
|          | 2. Pemilihan pelarut                      | 12   |
| C.       | Radikal Bebas dan Antioksidan             | 14   |
|          | 1. Radikal bebas                          | 14   |
|          | 2. Sumber radikal bebas                   | 14   |
|          | 3. Efek negatif radikal bebas             | 15   |
|          | 4. Kanker                                 | 16   |
|          | 5. Antioksidan                            | 17   |
|          | 2. Metode uji antioksidan                 | 18   |

| D.     | BSLT (Brine Shrimp Lethality Test              | 21 |
|--------|--|----|
|        | 1. Larva Udang Artemia salina                  | 21 |
|        | 2. Alasan penggunaan Artemia sebagai hewan uji | 25 |
| BAB II | I KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN     | 1  |
| A.     | Kerangka Konsep                                | 26 |
| B.     | Hipotesis Penelitian                           | 27 |
| BAB IV | METODOLOGI PENELITIAN                          |    |
| A.     | Bahan dan Alat Penelitian                      | 28 |
|        | 1. Bahan penelitian                            |    |
|        | 2. Alat penelitian                             | 28 |
| B.     | Tempat dan Waktu penelitian                    | 28 |
| C.     | Variabel Penelitian                            | 28 |
| D.     | Rancangan Penelitian                           | 29 |
| E.     | Prosedur Penelitian                            |    |
|        | 1. Persiapan bahan uji                         | 29 |
|        | 2. Ekstraksi buah kurma ajwa dengan maserasi   | 29 |
|        | 3. Uji kualitati <mark>f</mark>                |    |
|        | 4. Uji kuantita <mark>tif</mark>               | 31 |
|        | 5. Uji BSLT                                    | 32 |
| F.     | Analisis Data                                  | 33 |
| BAB V  | HASIL DAN PEMBAHASAN                           |    |
| A.     | Preparasi dan Ekstraksi Sampel Buah Kurma Ajwa | 35 |
| B.     | Analisis Fitokimia                             | 37 |
| C.     | Analisis FTIR                                  | 42 |
| D.     | Analisis Aktivitas Antioksidan                 | 44 |
| E.     | Skrining Potensi antikanker metode BSLT        | 50 |
| BAB V  | I PENUTUP                                      |    |
| A.     | Simpulan                                       | 56 |
| B.     | Saran  | 56 |
| AFTAD  | DUCTAVA  | 57 |

#### **BAB I**

#### **PENDAHULUAN**

#### A. Latar Belakang

Senyawa radikal bebas tidak dapat terlepas dari kehidupan kita, biasanya berasal dari asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari berlebih, asap kendaraan bermotor, ozone dan polusi udara (Hayati, 2011). Senyawa radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung dan kanker (Leong & Shui, 2002).

Radikal bebas merupakan molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbit luarnya (Aji, 2014). Elektron tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh (Umayah & Amrun, 2007). Sumber radikal bebas bisa berasal dari faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi oksidasi enzimatis pada mitokondria, sel fagosit, reaksi dengan (Fe), peroksisom dan peradangan. Faktor eksternal berasal dari radiasi sinar X, ozone, rokok, polusi udara, obat, pestisida dan bahan kimia (Hayati, 2011).

Radikal bebas di dalam tubuh secara alami dapat direduksi oleh enzim tubuh seperti peroksidase, katalase, glutation, histidin dan peptidin, namun efektivitasnya masih kurang akibat adanya pengaruh lingkungan, sehingga diperlukan senyawa antioksidan eksogen (Umayah & Amrun, 2007). Antioksidan eksogen dapat diperoleh dari alam (tumbuh-tumbuhan) mupun dibuat secara sintetik (Julfitriyani *et al.*, 2016).

Beberapa contoh antioksidan sintetik diantanya adalah senyawa fenolik seperti *utylated hydroxyanisol* (BHA), *terbutilasi hidroksi-toluena* (BHT), *butyl hydroquinone tersier* (TBHQ), dan *gallate propil* (PG). Batas penggunaan setelah diuji toksisitasnya adalah 0,02 % (Sayuti & Rina, 2015). Penggunaan terus menerus dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek karsinogenesis (Kikuzaki *et al.*, 2002). Oleh karena itu saat ini banyak dikembangkan penggunaan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya kepada senyawa

radikal bebas (Julfitriyani *et al.*, 2016). Adanya kandungan senyawa fenolik, asam p-coumaric, ferulic, sinapic, flavonoid dan procyanidins pada tanaman dapat menghambat adanya paparan radikal bebas. Salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa diatas adalah buah kurma.

Buah kurma (*Phoenix dactylifera*) memiliki rasa manis dengan kadar gula lebih dari 50% (Gangwar *et al.*, 2014). Buah kurma tersebar luas di daerah Timur Tengah, Afrika, India, Pakistan, Eropa Selatan dan Amerika Selatan (Khan *et al.*, 2016). Buah kurma juga tersebar di Indonesia diantaranya adalah kurma ajwa, saudi arabia, tunisia, mesir madu, agal madinah, madinah dan lulu (Satuhu, 2010). Kurma ajwa umumnya yang paling disukai karena rasanya yang manis dan memiliki tekstur yang lembut (Khan *et al.*, 2016).Buah kurma mengandung 44-88% karbohidrat, serat makanan 6,4-11,5%, protein 2,3-5,6%, lemak 0,2-0,5%, garam mineral dan vitamin (Sani *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian Ahmed *et al.*, 2008 menyatakan bahwa buah kurma mengandung lebih dari enam vitamin yaitu vitamin C, vitamin B1 (tiamin), B2 (riboflavin), asam nikotin (niacin) dan vitamin A. Selain itu ekstrak buah kurma juga memiliki kandungan antioksidan. Senyawa aktif antioksidan dalam buah kurma diantaranya adalah senyawa fenolik termasuk asam p-coumaric, ferulic, sinapic dan flavonoid (Sani *et al.*, 2015).

Buah kurma memiliki potensi antikanker, antioksidan, antiinflamasi, antiproliferatif, antimutagenik, antibakteri dan antijamur (Sani *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ragab *et al.*, 2013, menyatakan bahwa buah kurma ajwa memiliki berbagai manfaat yang luar biasa bagi tubuh seperti sumber kalium yang baik, membantu dalam memperkaya ASI, memiliki kandungan zat besi tinggi yang dapat mencegah anemia dan memiliki kandungan kadar serat alami tinggi yang efektif dalam membantu kerja sistem pencernaan. Kandungan serat makanan dari buah kurma ajwa memiliki aplikasi terapeutik dan efek perlindungan yang penting terhadap kondisi seperti hipertensi, penyakit jantung koroner, obesitas dan diabetes (Ragab *et al.*, 2013).

Sesungguhnya Allah telah menjelaskan dalam Al-Qur'an yang tercantum dalam surah As-syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhtumbuhan yang baik" (QS. As-Syu'ara: 7).

Ayat diatas menjelaskan bahwa telah diciptakan berbagai tumbuhtumbuhan yang baik, artinya memiliki banyak kandungan dan manfaat yang berguna bagi tubuh manusia diantaranya adalah kandungan senyawa antioksidan seperti yang terdapat dalam buah kurma ajwa.

Kadar antioksidan dalam buah kurma dapat diuji dengan berbagai macam metode, diantaranya adalah DPPH, ABTS, ORAC dan FRAP (Wachidah, 2013). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal dengan cara mengukur aktivitas transfer hidrogen sekaligus untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis (Marxen *et al.*, 2007; Pratimasari, 2009).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Arshad *et al.*, 2015 uji aktivitas antioksidan ekstrak buah kurma ajwa metode DPPH dengan metode ekstraksi soxhlet menggunakan berbagai macam pelarut seperti metanol, aceton, n-heksana, klorofom, n-butanol dan aquades diperoleh nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 yang berarti mengindikasikan berpotensi menjadi antioksidan (Arshad *et al.*, 2015). Metode soxhlet merupakan ekstraksi panas dimana ada kemungkinan senyawa-senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Sani *et al.*, 2015) buah kurma banyak mengandung senyawa termolabil seperti senyawa fenolik dan flavonoid. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak buah kurma ajwa menggunakan pelarut metanol metode

maserasi (ekstraksi dingin) dengan harapan senyawa yang diinginkan tidak rusak ketika proses ekstraksi (Sani *et al.*, 2015).

Metode maserasi memiliki beberapa keunggulan dibanding metode lain seperti mudah dilakukan, praktis dan tidak membutuhkan banyak pelarut (Mukhriani, 2014). Metode maserasi dapat dilakukan dengan berbagai jenis pelarut yang disesuaikan dengan sifat kepolaran pelarut dengan senyawa yang diharapkan oleh peneliti (Akbar, 2010). Penelitian ini menggunakan pelarut metanol. Metanol merupakan pelarut bersifat polar yang memiliki indeks polaritas 5,1 (Sholeh, 2009). Selain itu metanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan semipolar. Metanol dapat menarik senyawa aktif seperti alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid dari tanaman (Astarina, 2013).

Senyawa golongan polifenol seperti turunan flavonoid, *prenylated flavonoid* (senyawa flavonoid yang mengandung tambahan rantai isoprenoid/ditambah 5 atom karbon C pada gugus fenol) seperti norartocarpin dan albanin, pinostrobin diketahui berpotensi sebagai senyawa antitumor atau antikanker (Arung *et al.*, 2009; Parwata, 2014). Kurma juga diketahui memiliki kandungan senyawa-senyawa fenolik. Mempertimbangkan hal tersebut maka perlu dilakukan skrining potensi antikanker dari ekstrak metanol buah kurma ajwa dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) terhadap larva udang *Artemia salina*.

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode uji ketoksikan yang memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antitumor/antikanker (Sukardiman, 2004). Korelasi positif ditunjukkan antara uji BSLT dan sitotoksisitas pada sel nasofaring karsinoma (Solis *et al.*, 1993). *Brine Shrimp Lethlity Test* (BSLT) merupakan metode yang cepat, sederhana, mudah, terjangkau, tidak memerlukan tindakan aseptik dan hanya memerlukan sedikit bahan uji.

Uji BSLT hanya ditentukan dalam waktu singkat, yakni antara rentang waktu sekitar 24 jam setelah diberikan perlakuan (Suherman *et al.*, 2006). Prosedur uji BSLT yaitu dengan menentukan nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak atau senyawa bahan alam. LC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi dimana suatu ekstrak

dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan uji yang diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier Kematian hewan uji akibat ekstrak/ senyawa bahan alam dianalogikan sebagai kematian sel kanker (Prawirodiharjo, 2014).

Hewan uji yang digunakan dalam uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) berupa larva udang *Artemia salina*, yaitu organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan memiliki kepekaan yang cukup tinggi. Artemia salina digunakan sebagai hewan uji karena memiliki respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia. Kesamaan *Artemia salina* dengan mamalia diantaranya memiliki *DNA-dependent RNA polymerase* dan sebuah *oubaine-sensitive Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> dependent ATPase*.

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti ingin melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan metode DPPH dan skrining potensi antikanker dari ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap larva udang *Artemia salina* untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan potensi antikanker ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*).

#### **B. Rumusan Masalah**

Bagaimana aktivitas antioksidan dan potensi antikanker dari ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*)?

#### C. Tujuan Penelitian

- 1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan menggunakan metode DPPH.
- 2. Mengetahui potensi antikanker ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) menggunakan metode BSLT dengan variasi konsentrasi (0 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm 500 ppm dan 1000 ppm) terhadap larva udang *Artemia salina*.

#### D. Batasan Masalah

Penelitian ini menggunakan buah kurma ajwa (*Poenix dactilyfera*) yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol kemudian diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory concentration*). Selain itu juga dilakukan skrining potensi antikanker menggunakan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina*. Uji BSLT meggunakan variasi konsentrasi (0 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm 500 ppm dan 1000 ppm). Hasil uji BSLT dinyatakan dengan nilai LC<sub>50</sub> (*Lethal Concentration*).

#### E. Manfaat Penelitian

- Manfaat teoritis: menambah khazanah ilmu pengetahuan dan memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat dari kandungan buah kurma ajwa (Phoenix dactylifera).
- 2. Manfaat metodologis: dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya dan sebagai acuan metodologi khususnya aktivitas antioksidan dan skrining potensi antikanker dari ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*).
- 3. Manfaat aplikatif: dapat dijadikan sebagai landasan ilmiah penggunaan dari buah kurma ajwa sebagai bahan antioksidan alami untuk peningkatan kesehatan dan pemanfaatannya dalam bidang farmasi.

#### **BAB II**

#### TINJAUAN PUSTAKA

#### C. Kurma Ajwa (Phoenix dactylifera)

Kurma (*Phoenix dactylifera*) merupakan salah satu jenis tanaman palm yang umumnya tumbuh melimpah di Negara-negara Arab. Buah kurma (*Phoenix dactylifera*) memiliki rasa manis dengan kadar gula lebih dari 50% (Gangwar *et al.*, 2014). Dalam penelitian ini digunakan varietas kurma ajwa. Kurma ajwa umumnya yang paling disukai karena rasanya yang manis dan memiliki tekstur yang lembut (Khan *et al.*,2016). Berikut adalah klasifikasi ilmiah dari kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*).

#### 1. Klasifikasi kurma ajwa

Klasifikasi tanaman kurma menurut Linnaeus:

Kingdom: Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Arecales

Famili : Arecaceae

Genus : Phoenix

Spesies: Phoenix dactylifera

(Shoebahar et al., 2015)

#### 2. Deskripsi buah kurma ajwa

Kurma ajwa disebut juga sebagai kurma Nabi, dikarenakan ditanam oleh Nabi Mihammad SAW dan disebutkan dalam hadist. Kurma ajwa berasal dari Kota Ajwa di Saudi Arabia (Satuhu, 2010). Kurma ajwa memiliki bentuk elips, berat 5,131 g, panjang 2,459 cm, diameter 1,845 cm dan ketebalan daging buah 0,466 cm (Rahmani *et al.*, 2014). Morfologi kurma ajwa dapat diamati pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Kurma ajwa Sumber : Rahmani *et al.*, 2014

#### 3. Ekologi dan Penyebaran

Pohon kurma biasanya tumbuh di daerah yang kering seperti Timur Tengah (Williams, R. John dan Avin E. Pillay, 2011). Kurma tumbuh pada rentang suhu yang ekstrim -15°C hingga +51°C, namun paling optimal pada suhu antara 25°C-35°C (Djamil, 2016). Suhu tinggi dan kelembapan udara yang rendah adalah kondisi yang sesuai agar tanaman kurma dapat berbunga dan menghasilkan buah yang matang. Penyerbukan atau polinasi membutuhkan suhu yang optimal yaitu 35°C. Sedangkan saat pematangan buah dibutuhkan suhu maksimum yakni 32,33°C dengan syarat tanpa guyuran air sekalipun atau dengan curah hujan rendah (Adzani, 2015). Musim berbuah biasanya sekitar 5 bulan yakni pada Bulan Mei hingga September (Williams, R. John & Avin E. Pillay, 2011).

#### 4. Manfaat dan Kandungan Metabolit Sekunder Kurma Ajwa

Kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) memiliki manfaat yang luar biasa bagi tubuh seperti dapat mencegah hipertensi, jantung koroner, obesitas, hiperlipidemia dan diabetes (Ragab *et al.*, 2013;). Manfaat yang dimiliki buah kurma ajwa tentunya tidak terlepas dari adanya kandungan senyawa metabolit sekunder. Kandungan tersebut saling mempengaruhi dalam efek farmakologi seperti antikanker, antioksidan, antiulseratif, antiinflamasi, antiproliferatif, antimutagenik, antibakteri dan antijamur (Sani, 2015).

Kandungan metabolit sekunder dan senyawa aktif dalam buah kurma ajwa menurut Sani, 2015 diantaranya adalah terdiri dari 44-88% karbohidrat, serat makanan 6,4-11,5%, protein 2,3-5,6%, lemak 0,2-0,5%, garam mineral dan vitamin (Sani *et al*, 2015). Vitamin yang terkandung dalam buah kurma meliputi vitamin C, vitamin B1 (tiamin), B2 (riboflavin) dan vitamin A (Ahmed *et al*, 2008). Buah kurma juga mengandung senyawa aktif diantaranya senyawa fenolik seperti asam p-coumaric, ferulic, sinapic, flavonoid, procyanidins, gutathione, asam ascorbic, askorbat dan tocopherol. Senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan (Ahmed *et al*, 2008; Hamad *et al.*, 2015). Berdasarkan sumber yang dikemukakan oleh Hamad., *et al.*, 2015 buah kurma ajwa memiliki kadar fenolik dan flavonoid yang cukup tinggi jika dibandingkan dengan varietas kurma lainnya. Berikut adalah data perbandingan total fenolik dan kadar flavonoid dari kurma ajwa dengan kurma lain.

Tabel 2.1. Perbandingan kandungan senyawa fenolik kurma ajwa dengan kurma lain

| Kultivar        | Total fenolik    |  |  |
|-----------------|------------------|--|--|
| Nabot saif      | 22 ± 5.35        |  |  |
| Rashodia        | $16.58 \pm 1.05$ |  |  |
| Ajwa            | 22.11 ± 1.10     |  |  |
| Khodry          | $20.13 \pm 4.21$ |  |  |
| Khlas al absa   | $14.92 \pm 3.75$ |  |  |
| Sokary          | $17.10 \pm 2.84$ |  |  |
| Saffawy         | 21.99 ± 1.27     |  |  |
| Khlas al kharj  | 14.97 ± 1.28     |  |  |
| Mabroom         | $13.80 \pm 3.50$ |  |  |
| Khlas al qassim | $10.47 \pm 0.63$ |  |  |
| Nabtit ali      | $15.80 \pm 2.69$ |  |  |
| Khals el shiokh | 20.37 ± 1.17     |  |  |

Sumber: Hamad., et al., 2015.

Tabel 2.2. Perbandingan kandungan senyawa flavonoid kurma ajwa dengan kurma lain

| Kultivar   | Quercetin   | Luteolin    | Apigenin                   | Isoquercetin | Total       |
|------------|-------------|-------------|----------------------------|--------------|-------------|
|            |             |             |                            |              | Flavonoid   |
| Nabot saif | 0.170±0.020 | 0.045±0.010 | 0.291±0.064                | 0.726±0.160  | 2.175±0.461 |
| Rashodia   | 1.001±0.063 | 0.033±0.002 | 0.216±0.014                | 0.540±0.034  | 2.491±0.158 |
| Ajwa       | 1.219±0.071 | 0.041±0.002 | 0.263±0.015                | 0.411±0.001  | 2.787±0.138 |
| Khodry     | 1.112±0.247 | 0.026±0.007 | 0.240±0.053                | 0.360±0.080  | 2.284±0.219 |
| Khlas al   | 0.536±0.597 | 0.028±0.006 | 0.179±0.039                | 0.268±0.059  | 1.591±0.366 |
| ahsa       |             |             |                            |              |             |
| Sokary     | 0.838±0.025 | 0.028±0.001 | 0.181±0.005                | 0.271±0.008  | 1.983±0.104 |
| Saffawy    | 1.270±0.002 | 0.041±0.002 | 0.263±0.015                | 0.394±0.023  | 2.821±0.088 |
| Khlas al   | 1.112±0.247 | 0.026±0.007 | 0.081±0.023                | 0.173±0.039  | 1.939±0.102 |
| kharj      |             | 4 1         |                            |              |             |
| Mabroom    | 0.536±0.597 | 0.028±0.006 | 0.086±0.019                | 0.129±0.028  | 1.359±0.778 |
| Khla al    | 0.616±0.039 | 0.020±0.001 | 0.064±0.004                | 0.096±0.006  | 1.228±0.078 |
| qassim     |             |             |                            |              |             |
| Nabtit ali | 0.950±0.133 | 0.028±0.001 | 0.087±0.003                | 0.346±0.049  | 2.076±0.272 |
| Khals el   | 1.219±0.071 | 0.041±0.002 | 0.12 <mark>7±0</mark> .007 | 0.443±0.026  | 2.683±0.155 |
| shiokh     |             |             |                            |              |             |

Sumber: Hamad., et al., 2015.

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa kurma ajwa memiliki kadar flavonoid dan fenolik cukup tinggi dibandingkan varietas lain yakni sebesar 2.787±0.138 dan 22.11±1.10, sehingga dalam penelitian ini diharapkan kurma ajwa memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan buah kurma ajwa maka perlu dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak kental kurma ajwa.

#### B. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan kimia dengan campurannya menggunakan pelarut sehingga bahan yang terlarut akan berpisah dengan bahan yang tidak terlarut. Sedangkan ekstrak adalah suatu bahan atau zat yang diperoleh dari ekstraksi zat aktif dari bahan alam. Kualitas ekstrak dipengaruhi

oleh bagian tumbuhan yang digunakan, pelarut yang digunakan dan prosedur ekstraksi (Prawirodiharjo, 2014).

#### 1. Metode ekstraksi.

Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi panas:

#### a. Cara dingin

Ekstraksi cara dingin memiliki beberapa kelebihan seperti dapat memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Ekstraksi cara dingin dapat dibedakan sebagai berikut:

#### 1). Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan prinsip mendaptkan ekstrak menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar (Prawirodiharjo,2014). Senyawa dipisahkan dari pelarut melalui penyaringan (Mukhriani., 2014).

Kekurangan dari metode ini adalah memerlukan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani., 2014).

#### 2). Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru hingga mendapatkan ekstrak yang sempurna dan dilakukan pada suhu kamar (Prawirodiharjo,2014). Metode perkolasi memiliki beberapa kelebihan seperti sampel selalu dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area, membutuhkan banyak pelarut dan memerlukan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

#### b. Cara panas

#### 1). Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas dengan adanya pendingin balik (Prawirodiharjo, 2014). Kerugian dari metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhrini, 2014).

#### 2). Soxhlet

Soxhletasi adalah metode ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan alat soxhlet sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dimana jumlah pelarut konstan dengan pendingin balik (Prawirodiharjo, 2014).

Keuntungan dari metode ini adalah proses ektraksi kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Metode ini juga memiliki kekurangan seperti senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani., 2014).

#### 3). Digesti

Teknik ekstraksi secara maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur 40-50° C (Prawirodiharjo, 2014).

#### 2. Pemilihan pelarut

Pelarut adalah suatu zat tertentu yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Penentuan senyawa aktif dari bahan tumbuhan sangat bergantung pada jenis pelarut yang digunakan (Prawirodiharjo, 2014). Pelarut yang baik memiliki toksisitas rendah, mudah menguap pada suhu rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat serta dapat mengawetkan (Prawirodiharjo, 2014).

Pemilihan pelarut harus menyesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Senyawa nonpolar dapat dilarutkan dengan pelarut nonpolar sedangkan senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Faktorfaktor yang dapat mempengaruhi pemilihan jenis pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, toksisitas pelarut, dan potensial bahaya kesehatan dari pelarut. Beberapa pelarut yang biasa digunakan dalam prosedur ekstraksi antara lain:

#### a. Air

Air adalah pelarut *universal*, biasanya digunakan untuk mengekstraksi tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air juga melarutkan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas penting sebagai antioksidan (Prawirodiharjo, 2014).

#### b. Aseton

Aseton melarutakan beberapa komponen senyawa hidrofilik dan llipofilik dari tumbuhan. Keuntungan pelarut aseton yaitu dapat bercampur dengan air, mudah menguap dan memiliki toksisitas rendah. Aseton digunakan terutama untuk studi antimikroba dimana banyak senyawa fenolik yang terekstraki dengan aseton (Prawirodiharjo, 2014).

#### c. Alkohol

Ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air, hal ini dikarenakan etanol dapat menarik senyawa polifenol lebih tinggi daripada air. Etanol lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tumbuhan (Prawirodiharjo, 2014). Metanol merupakan pelarut bersifat polar yang memiliki indeks polaritas 5,1 (Sholeh, 2009).

Selain itu metanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan semipolar. Metanol dapat menarik senyawa aktif seperti alkaloid, steroid, saponin, flavonoid dari tanaman (Astarina, 2013).

#### d. Eter

Eter umumnya digunakan secara slektif untuk ekstraksi kumarin dan asa lemak (Prawirodiharjo, 2014).

#### e. n-Heksan

n-Heksan mempunyai karakteristik sangat tidak polar, biasanya digunakan untuk ekstraksi minyak nabati (Prawirodiharjo, 2014).

#### f. Etil asetat

Etil asetat merupakan pelarut dengan karakteristik semipolar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid (Prawirodiharjo, 2014).

Berdasarkan penjelasan di atas, proses pemilihan metode ekstraksi dan jenis pelarut sangat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan.

#### A. Radikal Bebas dan Antioksidan

#### 1. Radikal bebas

Radikal bebas merupakan suatu atom, molekul atau senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan di orbit luarnya (Aji, 2014). Elektron tidak berpasangan ini mempunyai kecenderungan untuk mendapatkan pasangannya dengan menyerang dan berikatan dengan elektron di sekitarnya. Jika radikal bebas telah berikatan maka akan menyebabkan kerusakan pada senyawa yang diserangnya dan akan terbentuk senyawa radikal bebas baru dari molekul yang elektronnya diambil.

Senyawa radikal bebas dalam kadar rendah diperlukan oleh tubuh untuk melawan radang, membunuh bakteri, sintesis DNA dan perangsangan kapasitasi spermatozoa termasuk reaksi akrosom dan penggabungan dengan oosit, namun dalam kadar berlebihan dapat menyebabkan terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner dan kanker (Sayuti & Rina, 2015; Hayati, 2011; Leong & Shui, 2001).

#### 2. Sumber radikal bebas

Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh (internal) dan dari luar tubuh (eksternal).

#### a. Sumber internal

Sumber internal merupakan respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat dan lemak (Sayuti dan Rina, 2015). Faktor internal meliputi oksidasi enzimatis pada mitokondria, sel fagosit, reaksi dengan logam Fe, peroksisom dan peradangan (Hayati, 2011)

#### b. Sumber eksternal

Sumber eksternal berasal dari faktor luar tubuh seperti pencemaran lingkungan, asap kendaraan, bahan makanan tambahan, cara pengolahan makanan, rokok, polutan, radiasi ozon, sinar X, kemoterapi dan pestisida (Khaira, 2010; Hayati, 2011).

#### 3. Efek negatif radikal bebas

Radikal bebas dapat merusak, sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan makromolekul sel, seperti protein, lipid, karbohidrat, atau DNA (Langseth, 1995).

#### a. Kerusakan DNA pada inti sel

Senyawa radikal bebas dapat menyebabkana kerusakan DNA dengan cara mengoksidasi DNA (Reynertson, 2007). DNA yang rusak akibat radikal bebas akan mengakibatkan perubahan genetik secara permanen (Langseth, 1995). Oksidasi DNA oleh senyawa radikal bebas juga dapat menginisiasi terjadinya kanker (Reynertson, 2007).

#### b. Kerusakan protein

Perubahan LDL (*low density lipoprotein*) menjadi LDL teroksidasi yang diperantarai oleh radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan dinding arteri dan kerusakan bagian arteri lainnya (Langseth, 1995).

#### c. Kerusakan lipid peroksida

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada ikatan lemak tak jenuh di dalam membran fosfolipid (peroksidasi lipid). Peroksidasi lipid pada membran dapat merusak struktur membran dan menyebabkan hilangnya fungsi dari organel sel (Sayuti & Rina, 2015).

#### 4. Kanker

Kanker adalah pertumbuhan jaringan yang baru sebagai akibat dari proliferasi (perumbuhan berlebihan) sel abnormal secara terus menerus yang memiliki kemampuan untuk menyerang dan merusak sel lainnya. Kanker dapat disebabkan oleh radikal hidroksil dan stres oksidatif dalam mekanisme biokimia yang terjadi di dalam tubuh. Pada keadaan stres oksidatif terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan.

Radikal bebas sebenarnya diproduksi oleh tubuh sebagai hasil sampingan dari reaksi biokimia dalam kehidupan aerobik khususnya pemberi sinyal untuk melakukan apoptosis (kematian sel yang terprogram) untuk menjaga keseimbangan suatu organisme (Dewiani, 2015). Namun jika radikal bebas berlebihan maka radikal bebas dapat merusak regulasi dan aktivitas sel, serta dapat menimbulkan kerusakan DNA (Pawarta, 2014). Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan DNA dengan cara mengoksidasi DNA (Reynertson, 2007). DNA yang rusak akibat radikal bebas akan mengakibatkan perubahan genetik secara permanen (Langseth, 1995). Oksidasi DNA oleh senyawa radikal bebas juga dapat menginisiasi terjadinya kanker (Reynertson, 2007). Radikal bebas berlebih dapat dicegah dengan antioksidan. Antioksidan alami dari senyawa flavonoid golongan flavanon yaitu pinostrobin memiliki bioaktivitas sebagai zat antimutagenik dan antikanker (Pawarta, 2014)

Mekanisme terjadinya kanker akibat dari radikal bebas dibagi menjadi tiga tahap yaitu tahap inisiasi (permulaan), promosi dan perkembangan. Tahap inisiasi dalah terjadinya perubahan permanen di dalam genom sel akibat kerusakan DNA yang berakhir pada mutagenesis. Tahap promosi berlangsung hingga 10 tahun dengan cara sel –sel mutan melakukan ekspansi dan berproliferasi. Pada tahap perkembangan sel mutan akan berproliferasi yang tak terkendali dan invasiv (menyerang) serta menyebar ke bagian sel lainnya (Dewiani,2015).

#### 5. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas, sehingga aktifitas radikal bebas dapat dihambat (Julfitriyani *et al.*, 2016). Antioksidan berfungsi untuk mencegah terjadinya stress oksidatif (Wherdhasari, 2014). Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan juga berfungsi untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif seperti kanker, tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat *et al.* 2007).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami bisa didapat dari alam atau tumbuh-tumbuhan, sedangkan antioksidan sintetik merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia (Julfitriyani et al., 2016). Beberapa antioksidan sintetik yang sering digunakan adalah senyawa fenolik adalah utylated hydroxyanisol (BHA), terbutilasi hidroksi-toluena (BHT), butyl hydroquinone tersier (TBHQ), dan gallate propil (PG) (Sayuti dan Rina, 2015).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi tiga yaitu antioksidan primer, skunder dan tersier (Purba & Martanto, 2009).

- a. Antioksidan primer berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru dengan merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang stabil. Contohnya adalah enzim SOD (*Superoxide dismutase*) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas. Enzim SOD sebenarnya sudah ada dalam tubuh, namun membutuhkan bantuan mineral seperti mangan, seng dan tembaga untuk proses aktivasi (Purba & Martanto, 2009).
- b. Antioksidan skunder berfungsi sebagai senyawa penangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contohnya vitamin E, vitamin C, beta karoten dan likopen (Purba & Martanto, 2009).

c. Antioksidan tersier merupakan senyawa yang dapat memperbaiki selsel dan jaringan yang rusak karena adanya serangan radikal bebas. Contohnya enzim reduktase yang memperbaiki DNA untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif (Purba & Martanto, 2009).

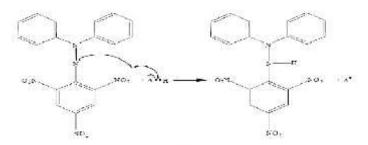
Berdasarkan kelarutannya, antioksidan dibagi menjadi dua yaitu larut dalam air (hidrofilik) dan larut dalam lipid/lemak (hidrofobik). Antioksidan larut air dapat bereaksi dengan radikal bebas yang ada di dalam sitoplasma dan plasma darah. Sedangkan antioksidan larut lemak menjaga membran sel dari peroksidase lipid yang disintesis dalam tubuh (Hayati, 2011).

#### 6. Metode uji antioksidan

Untuk menentukan aiktivitas antioksidan secara invitro terdapat beberapa metode menurut (Wachidah, 2013) yaitu:

a. DPPH (1,1–diphenyl-2-picylhydrazyl)

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis (Marxen *et al.*, 2007). Metode DPPH merupakan analisis untuk mengetahui aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (1,1–diphenyl-2-picylhydrazyl). DPPH merupakan radikal bebas berwarna ungu. Prinsip dari metode ini adalah mengukur terjadinya pemudaran warna dari radikal DPPH akibat adanya antioksidan. Antioksidan akan mentransfer elektron atau atom hidrogen ke radikal bebas sehingga menyebabkan karakter radikal bebas tereduksi. Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 517 nm, dimana radikal berwarna ungu tua menjadi tidak berwarna ketika tereduksi oleh antioksidan (Wachidah, 2013). Reaksi yang terjadi antara DPPH dan senyawa antioksidan disajikan pada gambar



Gambar 2.2 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan Sumber: Sayuti & Rina, 2015

Larutan DPPH yang berisi ekstrak sampel diukur serapan cahayanya dan dihitung aktivitas antioksidannya dengan menghitung presentase inhibisi. Persentase inhibisi yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang menangkap radikal bebas DPPH. Parameter yang juga digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan dari sampel formulasi ekstrak adalah IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> artinya suatu ekstrak memiliki aktivitas antioksidan semakin tinggi. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 μg/ml, kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> antara 50-100 μg/ml, sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 100-150 μg/ml, dan lemah apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 150-200 μg/ml (Syaifuddin, 2015).

# b. Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin-6sulfonikasid) diamonium)

Metode perendaman radikal kation ABTS merupakan metode uji untuk mengukur kapasitas antioksidan yang secara langsung bereaksi dengan kation ABTS. ABTS merupakan radikal dengan pusat nitrogen memiliki karakteristik warna biru kehijauan yang ketika tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk nonradikal yang tidak berwarna. Metode ini berdasarkan penghambatan pembentukan kation radikal ABTS dengan absorbsi maksimum pada panjang gelombang 734 nm (Wachidah, 2013).

#### c. Kapasitas serapan radikal oksigen (ORAC)

ORAC merupakan metode analisis baru yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan makanan dan senyawa kimia lainnya. Uji ini dilakukan menggunakan trolox (analog vitamin E) sebagai standar untuk menentukan trolox ekuivalen (TE). Nilai ORAC dihitung dari TE (Trolox ekuivalen) dan dinyatakan sebagai satuan atau nilai ORAC. Semakin tinggi nilai ORAC, semakin kuat aktivitas antioksidannya. Pengukuran ini berdasarkan pembentukan radikal bebas menggunakan AAPH (2,2-azobis-2-amido propane dihydrochloride) dan pengukuran penurunan dari fluorosensi dengan adanya penghambatan radikal (Wachidah, 2013).

#### d. Metode FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) merupakan salah satu uji tercepat dan sangat berguna untuk analisis rutin. Aktivitas antioksidan diukur dengan mengukur peningkatan serapan yang disebabkan oleh pembentukan ion Fe<sup>2+</sup> dari pereaksi FRAP yang berisi TPTZ (2,4,6-tri-(2-pyridyl-s-triazine) FeCL<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) serapannya diukur pada 595 nm (Wachidah, 2013).

#### **D. BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)**

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode uji ketoksikan yang memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antitumor/antikanker (Sukardiman, 2004). Korelasi positif ditunjukkan antara uji BSLT dan sitotoksisitas pada sel nasofaring karsinoma (Solis *et al.*, 1993). *Brine Shrimp Lethlity Test* (BSLT) merupakan metode yang cepat, sederhana, mudah, terjangkau, tidak memerlukan tindakan aseptik dan hanya memerlukan sedikit bahan uji. Prosedur uji BSLT adalah dengan menentukan nilai LC<sub>50</sub> dari aktivitas bahan uji terhadap larva *Artemia salina* selama 24 jam. LC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi dimana suatu ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji yang diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier (Prawirodiharjo, 2014). Data tersebut dianalisis menggunakan

probit analisis untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$ . Senyawa dengan nilai  $LC_{50}$ <100ppm dianggap sangat toksik, sedangkan nilai  $LC_{50}$ <1000 ppm dianggap toksik dan nilai  $LC_{50}$ >1000 ppm dinyatakan tidak toksik (Meyer,1982). Jika nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji kurang dari 1000 ppm maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining aawal terhadap senyawa bioaktif yang diduga berkhasiat sebagai antikanker (Ramdhini, 2010).

#### 1. Larva Udang Artemia sp.

#### a. Deskripsi dan klasifikasi

Artemia salina adalah termasuk dalam Genus Crustacea tingkat rendah dari Filum Arthropoda yang banyak mengandung protein. Artemia salina hidup sebagai makroplankton di perairan yang berkadar garam tinggi (antara 15-300 per mil). Suhu berkisar antara 25-30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L, dan pH antara 7,3–8,4 (Ramdhini, 2010).

Klasifikasi taksonomi dari Genus *Artemia* menurut Linnaeus, 1758 dalam jurnal Asem *et al.*, 2010 adalah:

Kingdom: Animalia

Filum : Arthropoda

Kelas : Branchiopoda

Ordo : Anostraca

Famili : Artemiidae

Genus : Artemia

Spesie : Artemia salina

Secara umum *Artemia* dewasa berukuran sekitar 10 mm dengan bobot kurang lebih 1 mg. Tubuh dibagi menjadi tiga bagian yakni bagian kepala, thorax dan abdomen (Gambar 2.3). Pada kepala terdapat sepasang antennules, antena, dan stockes eyes (Gambar 2.3 A,B dan C). Thorax memiliki sebelas pasang pelengkap tubuh yang dikenal sebagai torakopoda (Gambar 2.3 D). Bagian perut ditutupi duri,

berakhir di furca (Gambar 2.3 H). Antennules dan antena memiliki fungsi sensorik pada betina. Namun pada jantan antena dikembangkan menjadi sepasang clasper. Pada jantan terdapat penis sedangkan pada betina terdapat ovisac (Road and Puram, 2003).

# Biology of Artemia Structure Adult Juvenile Cysts Late nauplius Hatchi ng Nauplius

Gambar 2.3 Siklus hidup SArtemia salina

Keterangan: (A Antennule; B. Antenna; C.Compound eye; D. Thoracopods;

E. Uterus; F. Eggs; G. Abdomen; H. Caudal furca; I. Mandible;

J. Median eye; K. Developing thoracopods).

Sumber : Road and Puram, 2003

#### b. Cara berkembangbiak

Artemia salina memiliki dua cara reproduksi yaitu secara ovipar dan ovovivipar. Ovum berkembang di dalam ovarium yang terletak di kedua sisi dekat sistem pencernaan yang selanjutnya oosit ditransfer melalui saluran telur ke ovisac. Kopulasi dilakukan saat berenang dengan posisi berkuda. Selama kopulasi Artemia jantan mentransfer sel sperma ke rahim betina. Perkembangan embrio lebih lanjut terjadi di dalam rahim. Di dalam rahim, embrio berkembang menjadi nauplius. Naupli akan dilepaskan jika keadaan menguntungkan (ovipar), namun jika keadaan tidak menguntungkan maka nauplius akan dilapisi dengan shell dan membentuk kista. Sistem reproduksi ini disebut ovovivipar. Kista yang dilepaskan berukuran sekitar 200-300 mikron (Road and Puram, 2003).

#### d. Siklus hidup

Siklus hidup udang *Artemia salina* secara umum dapat dilihat dalam tiga fase yakni kista (telur), larva (nauplii) dan Artemia dewasa (Ajrina, 2013).

#### a. Kista

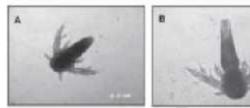
Kista berukuran sekitar 200-300 mikron. Kista memperoleh makanan dari cadangan yolk (Road & Puram, 2003). Kista ini mampu hidup di padang pasir selama 10 tahun dalam kondisi tidak aktif. Kista akan aktif kembali ketika berada pada tempat yang memiliki kadar air garam tinggi.

#### b. Naupli (instar)

Nauplii berukuran 300-400 mikron dengan satu mata. Gerakan tersentak-sentak dan tidak merata, terkadang gerakan melingkar. Untuk menjadi dewasa membutuhkan waktu sekitar 3-6 minggu (Shipley and Oregon., 2012).

Pada tahap ini nauplii akan mengalami 15 kali perubahan bentuk (metamorfosis). Larva tingkat I dinamakan instar, tingkat II (instar

II), tingkat III (instar III), demikian seterusnya hingga instar XV. Setelah itu, baru berubah menjadi artemia dewasa.





Gambar 2.4 Larva Artemia salina setelah penetasan.

Keterangan: A(instar I) 24 jam; B(instar II) 48 jam; C(instar III) 72 jam.

Sumber : Obrigon & Alvaro, 2010.

#### 1). Instar I

Pada tahap ini berbentuk bulat lonjong, panjang sekitar 400 mikron terdapat mata nauplium, sepasang antena pertama, dan mandibula. Warna kecoklatan (Obrigon & Alvaro, 2010).

#### 2). Instar II

Pada tahap ini panjang tubuh sekitar 600 mikron, terdapat mata nauplium, sepasang antena pertama, dan mandibula. Warna kecoklatan dan anal terbuka (Obrigon & Alvaro, 2010). Larva mulai memiliki mulut dan saluran pencernaan sehingga mulai mencari makan untuk memenuhi cadangan makanan yang berkurang.

#### 3). Instar III

Pada tahap ini panjang tubuh sekitar 700 mikron. Terjadi pertumbuhan mata nauplium menjadi mata majemuk, sepasang antena pertama, dan mandibula. Warna kecoklatan dan ditemukan sistem pencernaan lineal (Obrigon & Alvaro. 2010). Mulai tumbuh tunas kaki di bagian samping kanan kiri tubuhnya yang disebut torakopoda (Ajrina, 2013)

#### c. Dewasa

*Artemia salina* yang sudah dewasa dapat hidup sampai enam bulan. Sementara induk-induk betinanya akan beranak atau bertelur setiap 4-5 hari sekali, dihasilkan 50-300 telur atau nauplius. Nauplius

akan dewasa setelah berumur 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (Mudjiman, 1995).

#### 2. Alasan Penggunaan Artemia salina sebagai hewan uji

Artemia salina sangat rentan terhadap zat toksik pada fase awal pertumbuhannya, terutama pada fase instar I dan II. Artemia salina digunakan sebagai hewan uji karena memiliki respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia. *Artemia salina* memiliki *DNA-dependent RNA polymerase* dan sebuah *oubaine-sensitive Na+ dan K+ dependent ATPase. DNA-dependent RNA polymerase* berguna dalam pemisahan kedua untai DNA dan menggabungkan nukleotida-nukleotida RNA saat membentuk pasangan basa di sepanjang rantai DNA. Jika suatu senyawa menghambat proses ini maka DNA tidak dapat mensintesis RNA sehingga sintesis protein terganggu. Jika protein tidak terbentuk maka metabolisme sel tidak berlangsung. Hal tersebut dapat menyebabkan kematian pada *Artemia salina*.

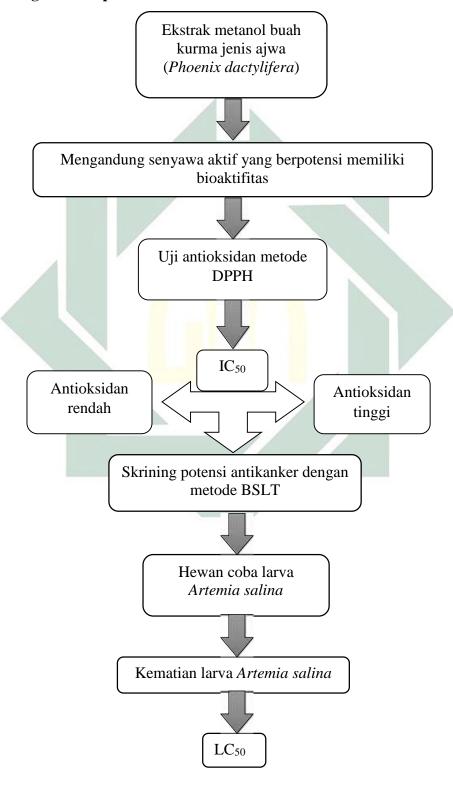
Sedangkan Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> dependent ATPase merupakan enzim yang menghidrolisis ATP menjadi ADP dan menggunakan energi untuk mengeluarkan 3 Na<sup>+</sup> ke luar sel dan mengambil K<sup>+</sup> dependent ATPase ke dalam sel. *Oubaine* memiliki fungsi menginhibisi Na+ dan K+ dependent ATPase dan berperan dalam proliferasi sel. Apabila ada senyawa yang mempengaruhi *oubaine* maka dapat menyebabkan proliferasi sel terganggu sehingga dapat menyebabkan kematian sel dari *Artemia salina*.

Artemia salina juga memiliki fisiologi yang sama dengan manusia, seperti sistem syaraf pusat, sistem pencernaan, mata dan sistem vaskular. Artemia juga memiliki mebran kulit yang tipis sehingga kematian akibat zat toksik dari senyawa bioaktif dianalogikan dengan kematian sel pada organisme. Artemia digunakan secara luas untuk uji toksisitas karena telur dorman (kista) dapat hidup dalam kondisi kering selama bertahuntahun dan mudah menetas dalam 48 jam (Hanifah, 2015).

#### **BAB III**

#### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### A. Kerangka Konsep

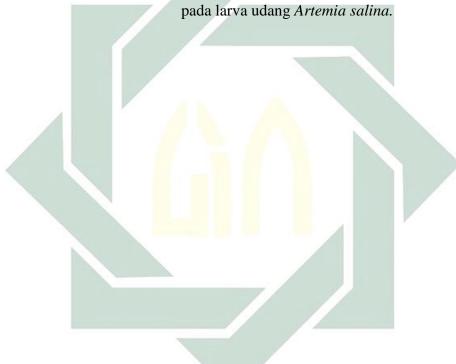


#### **B.**. Hipotesis Penelitian

1. H0 (Hipotesis nol)

:Ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) tidak mengandung antioksidan dan tidak berpotensi sebagai antikanker (LC<sub>50</sub>>1000 ppm) pada larva udang *Artemia salina*.

2. H1 (Hipotesis alternatif):Ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) mengandung antioksidan tinggi dan berpotensi sebagai antikanker (LC<sub>50</sub><1000 ppm)



#### **BAB IV**

#### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Bahan dan Alat Penelitian

Dalam penelitian ini diperlukan beberapa bahan dan alat yang digunakan selama berlangsungnya proses penelitian diantaranya adalah:

#### 1. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*), alumunium foil, metanol pro analisa (*Emsure Merk, Jerman*), aquades, klorofom (*SAP Chemical, Melonesi*), asam sulfat pekat (HCl) (*Emsure Merk, Jerman*), reagen wgner (Yodium-Kalium iodida) FeCl<sub>3</sub> (*Emsure Merk, Jerman*), reagen molisch, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (*Emsure Merk, Jerman*), air laut dari kenjeran, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (*Sigma-Aldrich*), Plat KBr dan kista udang *Artemia salina*.

# 2. Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, nampan, gelas beaker IWAKI, erlenmeyer IWAKI CTE33, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, kaca arloji, cawan petri, neraca analitk METTLER TOLEDO ML204T, corong kaca HERMA 75 mm, kertas saring whatmann 41, pipet tetes, botol flakon, oven HERATERM, rotary evaporator, lup, seperangkat alat penetas telur, pipet tetes, spektrofotomer UV-VIS dan FTIR.

## B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium intergrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya pada bulan September 2017 hingga Desember 2018.

# C. Variabel Penelitian

Variabel bebas : konsentrasi ekstrak metanol buah kurma ajwa

Variabel terikat : aktivitas antioksidan, toksisitas buah kurma ajwa

Variabel kontrol : metanol, suhu maserasi, waktu maserasi

# D. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian acak lengkap (RAL) dimana uji antioksidan dilakukan menggunakan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dengan ulangan sebanyak 3 kali ulangan. Setiap perlakuan diisi larva udang *Artemia salina* sebanyak 10 ekor sehingga diperlukan sebanyak 210 ekor dan melihat aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah kurma jwa pada konsentrasi tunggal.

#### E. Prosedur Penelitian

#### 1. Persiapan bahan uji

Buah kurma ajwa diperoleh dari sebuah toko oleh-oleh haji dan umrah di Surabaya. Dipilih buah kurma yang berwarna hitam dan bulat, selanjutnya dipisahkan antara daging buah kurma dengan bijinya. Daging buah kurma dipotong kecil-kecil untuk memperluas permukaan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 80°C selama 2x24 jam. Buah kurma selanjutnya ditimbang sebanyak 250 gram dan dihaluskan menggunakan blender sampai halus. Serbuk halus buah kurma ajwa digunakan untuk membuat ekstrak.

# 2. Ekstraksi buah kurma ajwa dengan maserasi

Metode ekstraksi dilakukan dengan maserasi. Buah kurma ajwa yang sudah berbentuk serbuk kering sebanyak 250 gram dimasukkan ke dalam gelas beaker dan direndam dengan metanol sebagai pelarutnya dengan perbandingan 1:2 untuk serbuk buah kurma dan volume pelarutnya. Selanjutnya dibiarkan selama 2x24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil rendamen disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dengan residu. Filtrat dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak metanol buah kurma ajwa.

# 3. Uji Kualitatif

Uji kualitatif yang dilakukan meliputi uji fitokimia dan analisis spektrofotometri FT-IR

# a. Uji Fitokimia

# 1). Uji sterol dan triterpenoid

Ekstrak kurma dilarutkan dalam klorofom, kemudian disaring dan filtrat diuji dengan uji salkowski yaitu filtrat ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat dan diamati perubahan warna yang terjadi. Warna merah di lapisan bawah positif sterol dan warna kuning keemasan menunjukkan adanya triterpenoid (Fitriyani *et al.*, 2011).

#### 2). Uji Alkaloid

Diambil sedikit sampel, ditambahkan HCl 2M 10 ml, dipanaskan sambil diaduk kemudian didinginkan dan dsaring, filtrat ditambahkan HCl 5 ml dan reagen wagner (*Yodium-Kalium iodida*) (Setyowati *et al.*, 2014)

# 3). Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambah 5 ml air suling lalu dikocok dan diamati terbentuknya buih stabil (Setyowati *et al.*, 2014)

#### 4). Uji Flavonoid

Beberapa tetes FeCl<sub>3</sub>, hasil positif menunjukkan warna ungu, biru, hitam, hijau maupun merah (Setyowati *et al.*, 2014).

#### 5). Uji Karbohidrat

Sampel diencerkan dengan metanol, diambil 2 ml kemudian ditambahkan NaOH 1 tetes, lalu ditambah CuSO4 beberapa tetes. Hasil positif menunjukkan adanya cincin ungu atau perubahan warna menjadi kemerahan.

#### b. Analisis spektrofotometri FTIR

Mula-mula dibuat plat KBr secukupnya kemudian sampel ekstrak metanol buah kurma ajwa dioleskan diatas plat dan diukur serapan infra merah dengan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi senyawa.

# 4. Uji kuantitatif

#### a. Analisis antioksidan metode DPPH

#### 1). Pembuatan larutan stok DPPH

Sejumlah 1,5 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 15 ml metanol p.a, sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan ini kemudian disimpan dalam botol gelap.

# 2). Optimasi panjang gelombang DPPH

Pencarian panjang gelombang optimum dilakukan dengan cara memipet 1 ml larutan DPPH 100 ppm kemudian dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan metanol lalu dihomogenkan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan ini ditentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelomang 515-518 nm serta ditentukan panjang gelombang optimumnya.

#### 3). Pembuatan larutan kontrol negatif

Dipipet 1 ml metanol kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml larutan DPPH konsentrasi 100 ppm. Volume dicukupkan sampai 5 ml dengan metanol lalu dihomogenkan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.

# 4). Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanol kurma ajwa

Ekstrak metanol kurma ajwa ditimbang sebanyak 1,5 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai 15 ml, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan stok dipipet 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml dan dimasukkan pada botol vial yang berbeda untuk masing-masing konsentrasi. Larutan DPPH selanjutnya ditambahkan kedalam botol vial sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya dengan metanol hingga 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm (Alharthi, 2015). Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Masing-masing diukur

absorbansi menggunakan spetrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

#### 5. Uji BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

#### a. Sampel

#### 1). Kriteria inklusi

Larva Artemia salina berumur 48 jam sebagai hewan uji.

#### 2). Kriteria eksklusi

Larva *Artemia salina* yang tidak menunjukkan ativitas pergerakan sebelum diberi perlakuan.

# 3). Besar sampel

Jumlah larva *Artemia salina* yang digunakan pada setiap konsentrasi ekstrak adalah 10 ekor. Pada peelitian ini terdapat enam konsentrasi dan satu kontrol negatif. Kemudian dilakukan replikasi tiga kali (triplo) untuk tiap konsentrasi dan kontrol negatif. Jadi jumlah sampel total yang diperlukan adalah 210 ekor larva *Artemia salina* setiap kali perlakuan.

# 4). Cara pengambilan sampel

Sampel dambil secara *purposive random sampling*. Larva *Artemia salina* dengan jenis dan cara penyediaan yang sama untuk diseleksi sebagai sampel. Hal ini karena anggota populasi telah bersifat homogen

#### b. Penetasan larva udang

Disiapkan wadah plastik untuk proses penetasan udang *Artemia salina* kemudian dimasukkan 1 liter air laut. Ditimbang 1 mg kista *Artemia salina* dan dimasukkan dalam wadah. Dibiarkan dalam keadaan terang selama 48 jam. Setelah 48 jam kista akan menetas dan larva akan bergerak secara alamiah menuju cahaya. Larva yang bersifat fototropik akan dijadikan hewan uji pada metode BSLT. Proses penetasan dilakukan pada suhu ruang dan diberi aerator untuk menjaga oksigen terlarut dalam air.

#### c. Membuat konsentrasi ekstrak

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, 1000 ppm. Ekstrak kental metanol kurma ajwa ditimbang menggunakan neraca analitik hingga mencapai berat 100 mg. Kemudian ekstrak dilarutkan dalam 10 ml air laut, larutan dihomogenkan dengan batang pengaduk. Larutan tersebut merupakan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya membuat larutan uji dengan konsentrasi 500 ppm, 200 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 1 ppm menggunakan rumus pengenceran  $V_1M_1 = V_2M_2$  dengan keterangan:

 $V_1$ = volume awal

M<sub>1</sub>= konsentrasi awal

V<sub>2</sub>= volume akhir

M<sub>2</sub>= konsentrasi a<mark>khi</mark>r

d. Prosedur uji toksisitas dengan metode BSLT

Delapan belas botol vial disiapkan sebagai media uji. Dituangkan 10 ml air laut ke dalam masing-masing botol vial. Larva udang *Artemia salina* dimasukkan ke dalam masing-masing botol vial sebanyak 10 ekor. Ditambahkan 10 ml ekstrak pada masing-masing cawan petri sesuai konsentrasi yang telah ditentukan.

#### F. Analisis Data

Uji aktivitas antioksidan metode DPPH dianalisis menggunakan regresi liner, sedangkan uji toksisitas dianalisis menggunakan probit manual dengan cara menentukan persen mortalitas terlebih dahulu.

1. Penentuan persentase aktivitas antioksidan dan nilai IC<sub>50</sub>

Presentase aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus:

% aktivitas antioksidan = Absorbansi kontrol-Absorbansi sampel x 100%

Absorbansi kontrol

Keterangan:

Absorbansi kontrol = absorbansi DPPH

Absorbansi sampel = absorbansi ekstrak buah kurma Ajwa

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan rumus persamaan regresi linier menggunakan *microsoft excel*. Nilai IC<sub>50</sub> dapat diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan (x) dengan %inhibisi (y). Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dengan cara menghitung antilog nilai x yang diperoleh yaitu dengan dengan cara memasukkan angka 50 sebagai y dalam persamaan regresi linier yang diperoleh dari grafik log konsentrasi dengan %inhibisi. IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi yang diperlukan untuk meredam aktivitas radikal bebas sampai 50%.

# 2. Penentuan persen mortalitas (LC<sub>50</sub>) uji BSLT:

Persen mortalitas diperoleh dari perhitungan jumlah larva yang mati dibagi jumlah larva awal dikalikan 100% pada tiap konsentrasi, seperti rumus yang dipopulerkan oleh Meyer, 1982 dibawah ini:

Persentase kematian = Jumlah larva mati x 100%

Jumlah larva total awal

Setelah diperoleh nilai mortalitasnya, langkah selanjutnya adalah menentukan nilai probit dengan mencocokkan pada tabel probit. Setelah diperoleh nilai probit dilanjutkan dengan menentukan log konsentrasi dengan cara membuat grafik dengan persamaan garis lurus y = ax-c dengan keterangan:

Y = probit

x = log C

a = slope, nilai slope bisa dihitung dengan rumus

c = intercept, nilai ini bisa dihitung dengan rumus

Pada penelitian ini perhitungan nilai slope dan intercept dilakukan menggunakan *microsoft office excel* dengan membuat grafik persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi. Selanjutnya penentuan nilai LC<sub>50</sub> dapat dihitung dari persamaan garis lurus dengan memasukkan nilai probit 50 (probil dari 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC<sub>50</sub> (Priyanto, 2009).

# **BAB V**

# HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan serta toksisitas dari ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*). Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini dimulai dari ekstraksi buah kurma ajwa, dilanjutkan uji fitokimia, analisis FTIR, uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas akut.

# A. Preparasi dan Ekstraksi Sampel Buah Kurma Ajwa

Preparasi buah kurma ajwa merupakan tahap pertama yang harus dilakukan sebelum melakukan uji selanjutnya. Tahap ini diawali dengan memisahkan daging buah kurma ajwa dari bijinya. Daging buah kurma ajwa selanjutnya dipotong kecil-kecil agar lebih mudah dalam proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan menggunakan oven pada suhu 80°C guna menghilangkan kadar air dalam buah kurma ajwa sehingga tidak menghalangi distribusi senyawa aktif saat proses maserasi (Shahdadi *et al.*, 2013). Buah kurma ajwa menjadi keras setelah pengeringan akibat dari hilangnya beberapa persen kandungan airnya. Massa awal buah kurma ajwa segar 250 gram menjadi 100 gram berat kering. Buah kurma ajwa kering dihaluskan menggunakan blender untuk dijadikan serbuk, dengan tujuan memperluas luas permukaan agar distribusi senyawa berjalan optimal saat maserasi dilakukan. Serbuk daging buah kurma ajwa dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Serbuk kering buah kurma ajwa

Sumber: Foto pribadi

Serbuk daging buah kurma ajwa selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang sesuai pada suhu kamar (Mukhriani., 2014). Dipilih metode maserasi karena merupakan teknik ekstraksi dingin yang diharapkan dapat menarik senyawa-senyawa antioksidan (polifenol) lebih banyak. Senyawa golongan polifenol merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas, sehingga diharapkan dengan ekstraksi dingin senyawa tidak rusak ketika proses ekstraksi berlangsung (Sani *et al.*, 2015).

Proses maserasi dilakukan dengan merendam sampel buah kurma ajwa dalam pelarut metanol selama 2x24 jam. Selama proses perendaman dilakukan beberapa kali pengadukan. Sampel akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel ketika proses perendaman, sehingga metabolit sekunder akan larut dalam pelarut organik (Handayani, 2015). Pelarut metanol dipilih karena bersifat polar yang memiliki indeks polaritas 5,1 (Sholeh, 2009). Selain itu metanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan semipolar. Metanol dapat menarik senyawa aktif seperti alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid dari tanaman (Astarina, 2013). Penggunaan metanol juga dapat bertindak sebagai pengawet sehingga ekstrak tidak mudah terkontaminasi. Setelah perendaman dengan metanol selanjutnya disaring dan diambil filtratnya. Filtrat buah kurma ajwa dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan 100 rpm pada suhu 65°C. Tujuannya untuk menguapkan pelarut sesuai dengan titik didihnya. Filtrat ini selanjutnya digunakan untuk uji fitokimia. Filtrat pekat ekstrak metanol buah kurma ajwa dapat dilihat pada Gambar 5.2



Gambar 5.2: Ekstrak metanol buah kurma ajwa pekat

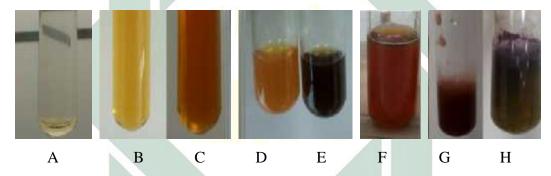
Sumber : Foto pribadi

#### B. Analisis Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada tanaman secara kualitatif. Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan terhadap golongan senyawa triterpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, tanin dan karbohidrat. Diperoleh hasil positif seperti yang terlihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil uji fitokimia

| Uji Fitokimia   | Hasil | Keterangan                  |
|-----------------|-------|-----------------------------|
| Triterpenoid    | 4     | Terbentuk cincin kuning     |
| Steroid         |       | Tidak terbentuk warna merah |
| Alkaloid        | -//   | Tidak terbentuk endapan     |
| Flavonoid/tanin | +     | Terjadi perubahan warna     |
| Saponin         | -     | Tidak terbentuk busa        |
| Karbohidrat     | +     | Terbentuk cincin ungu       |



Gambar 5.3: Hasil Uji Fitokimia

Sumber : Foto pribadi

Keterangan: A. Uji triterpenoid / steroid

B.Uji alkaloid sebelum ditambah reagen

C.Uji alkaloid + reagen

D.Uji flavonoid sebelum ditambah reagen

E.Uji flavonoid + reagen

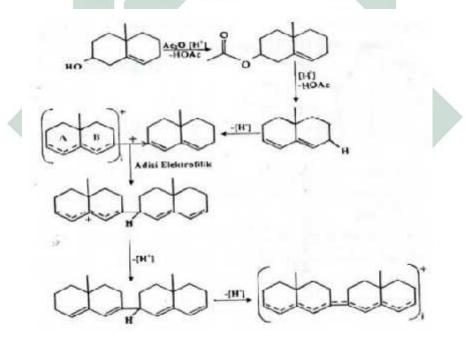
F.Uji saponin

G.Uji Karbohidrat sebelum ditambah reagen

H.Uji karbohidrat + reagen

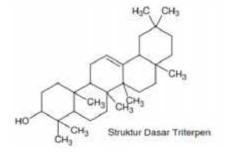
Hasil uji fitokimia pada smpel ekstrak metanol buah kurma ajwa diketahui mengandung triterpenoid yang ditunjukkan dengan adanya cincin kuning keemasan (Atun, 2014). Perubahan warna yang terjadi diakibatkan oleh adanya oksidasi senyawa golongan terpenoid/steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Terbentuknya ikatan rangkap juga disertai dengan pelepasan H<sub>2</sub>O dan penggabungan karbokation. Reaksi ini diawali dengan

proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidra. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti dengan pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang akan memunculkan warna kecoklatan pada sampel (Setyowati *et al.*, 2014). Reaksi terpenoid dengan pereaksi dapat terlihat pada Gambar 5.4



Gambar 5.4 Reaksi triterpenoid dengan pereaksi Sumber: Setyowati *et al.*, 2014

Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder dimana kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena (2-metil-1,3-diene) yang memiliki kerangka karbon  $C_5$  dan diturunkan dari hidrokarbon  $C_{30}$  siklik (Purba, 2007).



Gambar 5.5 Struktur triterpenoid Sumber: Zhang *et al.*, 2013

Senyawa triterpenoid memiliki gugus alkohol (-OH), aldehid (-COH) dan asam karboksilat (-COOH), artinya memiliki gugus –OH, sehingga dapat dikatakan bersifat polar. Oleh karena itu triterpenoid dapat diekstraksi menggunakan pelarut metanol (Widiyati, 2006). Senyawa triterpenoid dapat dimanfaatkan sebagai antivirus, anti bakteri, anti inflamasi, anti kanker, anti diabetes, penyakit kulit, dan malaria (Widiyati, 2006; Balafif *et al.*, 2013). Fungsi triterpenoid bagi tumbuhan itu sendiri yakni sebagai insektisida alami, anti fungi, anti bakteri dan anti virus (Widiyati, 2006).

Uji fitokimia selanjutnya adalah uji senyawa alkaloid pada ekstrak metanol daging buah kurma ajwa yang menunjukkan hasil negatif, ditunjukkan dengan tidak terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning setelah penambahan reagen wagner. Beberapa senyawa alkaloid diketahui dapat bersifat racun seperti nikotin. Nikotin merupakan senyawa golongan alkaloid yang dihasilkan oleh tembakau (Setyowati, 2013; Hammado & Ilmiati, 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Saha *et al.*, 2017, Alkaloid jenis tertentu dapat menghambat aktivitas neurotransmitter (Saha et al., 2017).

Skrining fitokimia selanjutnya adalah uji saponin yang menunjukan hasil negatif karena tidak terbentuk busa. Saponin mudah larut dalam air dan memiliki rasa pahit menusuk (Prihatma, 2001). Saponin dapat menghambat peningkatan kadar glukosa darah, namun saponin jenis tertentu dapat bersifat racun yang biasa disebut sebagai sapotoksin (Minarno, 2016; Prihatma, 2001).

Uji fitokimia berikutnya adalah uji flavonoid menggunakan FeCl<sub>3</sub>. Pereaksi FeCl<sub>3</sub> dipergunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol

termasuk flavonoid dan tanin. Ekstrak metanol buah kurma ajwa menunjukkan hasil positif, diketahui dengan terbentuknya warna ungu yang semakin lama membentuk warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna ungu disebabkan oleh flavonoid yang bereaksi dengan FeCl<sub>3</sub> (Atun, 2014). Uji fitokimia menggunakan FeCl<sub>3</sub> dapat menunjukkan adanya gugus fenol dengan terbentuknya warna hijau kehitaman dikarenakan senyawa fenol yang terkandung akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe<sup>3+</sup> (Artini *et al.*, 2013). Adanya kandungan gugus fenol , dimungkinkan juga terdapat tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol (Iklinus *et al.*, 2015). Reaksi antara senyawa fenol dengan FeCl<sub>3</sub> dapat dilihat pada Gambar 5.6.

Gambar 5.6 Reaksi antara senyawa fenol dengan FeCl<sub>3</sub> Sumber: Setyowati, 2014

Flavonoid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di tanaman. Flavonoid merupakan turunan dari senyawa fenolik yang memiliki kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzena (C6) terikat pada struktur rantai propana (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6 (Lenny, 2006). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa flavonoid memiliki manfaat untuk mengurangi resiko penyakit jantung koroner dengan cara menghambat proses oksidasi LDL (*low density lipoprotein*) secara *ex vivo*. Produk oksidatif LDL dapat menyebabkan terjadinya penyempitan pembuluh darah koroner (Redha, 2013). Selain memiliki efek kardioprotektif, telah banyak pula hasil penelitian yang menunjukkan bahwa flavonoid mempunyai konstribusi dalam aktivitas

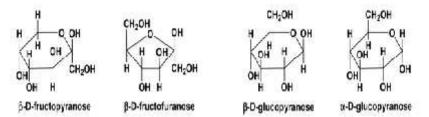
antiproliferatif pada sel kanker dimana telah dilakukan penelitian suatu senyawa flavonoid yang terdapat pada citrus, dapat menghambat sel tumor manusia (Bracke *et al.*, 1994). Manthey dan Najla Guthrie (2002) menyatakan bahwa senyawa flavone polymethoxylated pada citrus (termasuk senyawa alami dan sejumlah senyawa analog sintetisnya) menunjukkan aktivitas anti proliverativ terhadap 6 jenis sel kanker. Aktivitas yang tinggi dapat dilihat pada 5-desmethylsinensetin, suatu senyawa minor pada kulit jeruk (*orange*), dengan nilai rata-rata IC<sub>50</sub> 1,4 μM (Redha, 2010).

Gambar 5.7 Struktur flavonoid Sumber: Redha., 2010

Uji molisch menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya cincin ungu. Penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada uji ini bertujuan untuk kondensing agent dan pembentukan senyawa multifurfural sehingga terbentuk rantai karbon yang semakin pendek. Furfural ini kemudian bereaksi dengan reagent molish membentuk -naphthol yang membentuk cincin berwarna ungu (Schreck and William, 1994).

Uji molish adalah reaksi yang paling umum untuk mengidentifikasi adanya karbohidrat. Uji molish efektif untuk menguji senyawa yang dapat didehidrasi oleh asam pekat menjadi senyawa furfural. Uji sampel ekstrak metanol buah kurma ajwa ditetesi dengan reagen molish selanjutnya dihidrolisis dengan asam sulfat pekat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) sehingga terjadi pemutusan ikatan glikosidik (ikatan yang menghubungkan monosakarida satu dengan monosakarida yang lain) dari rantai karbohidrat polosakarida menjadi disakarida dan monosakarida.

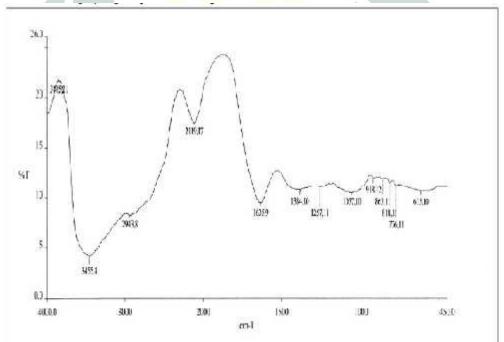
Karbohidrat merupakan komponen organik utama yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan. Kaarbohidrat biasa terdapat pada biji, buah dan akar tumbuhan. Karbohidrat terbentuk dari proses fotosintesis. Karbohidrat merupakan sumber energi utama yang dibutuhkan oleh mahluk hidup.



Gambar 5.8 Isomer fruktosa dan glukosa Sumber: Zhang *et al.*, 2013

# C. Analisis FTIR

Hasil ekstrak metanol kurma ajwa dianalisis menggunakan FTIR untuk melihat gugus fungsi berdasarkan intensitas cahaya inframerah yang diserap oleh senyawa-senyawa hasil ekstraksi. Analisis spektroskopi inframerah menghasilkan 13 puncak serapan gelombang. Puncak serapan gelombang dapat dilihat pada Gambar 5.8 dan Tabel 5.2.



Gambar 5.9 Hasil analisis FTIR ekstrak metanol buah kurma ajwa Sumber: Dokumen pribadi.

Tabel 5.2 Puncak-puncak pada spektra FTIR ekstrak buah kurma ajwa

| Puncak    | Gugus Fungsi                      |  |  |
|-----------|-----------------------------------|--|--|
| 3845      | -                                 |  |  |
| 3455      | -OH (alkohol)                     |  |  |
| 2943, 918 | -CH alifatik stretcing            |  |  |
| 2119      | -R (Alkil)                        |  |  |
| 1635      | C=C alifatik stretcing/aromatik   |  |  |
| 1384      | Aldehid/ -CH <sub>3</sub> bending |  |  |
| 1257      | C-O alkohol                       |  |  |
| 1057      | -                                 |  |  |
| 863       | -O- Eter                          |  |  |
| 776       | -CH aromatik                      |  |  |
| 615       | <u>-</u>                          |  |  |

Sumber: Dok. Pribadi; Rita, 2010; Robinson et al., 2005; Suteja, 2016

Senyawa hasil ekstraksi menunjukkan serapan-serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi diantaranya adalah pada panjang gelombang 3455 nm dengan puncak yang melebar menunjukkan adanya gugus fungsi hidroksi (-OH). Panjang gelombang 2943 nm menunjukkan gugus fungsi (-CH) alifatik streching pada metil dan metilena, yang diperkuat dengan (-CH<sub>3</sub>) bending. Panjang gelombang 1635 nm menunjukkan adanya gugus fungsi -C=C alifatik streching. Beberapa serapan panjang gelombang yang telah disebutkan di atas menunjukkan adanya kandungan triterpenoid, yang ditandai dengan adanya gugus -OH, C-O, -CH dan -C=C seperti yang terlihat pada gambar (Rita, 2010).

Kandungan Flavonoid diperkuat dengan adanya serapan 3455, 2943, 1635 dan 776 nm pada analisis FTIR. Serapan 3455 nm menunjukkan adanya gugus OH terikat pada gugus alifatik dan aromatik yang disebabkan adanya adanya vibrasi ikatan hidrogen intramolekul. Serapan 2943 menunjukkan adanya gugus CH alifatik. Serapan pada 1635 nm merupakan serapan dari C=C aromatik. Serapan pada bilangan gelombang 776 menunjukkan adanya tekukan ke luar bidang ikatan CH aromatik. Analisis UV-Vis diperlukan untuk memastikan jenis senyawa flavonoid dalam ekstrak (Syahril, 2015; Suteja, 2016).

Karbohidrat mengandung gugus fungsi karbonil (sebagai aldehida atau keton) dan banyak gugus hidroksil (Kuchel and Ralston, 2006). Gugus fungsi

aldehid dalam analisis FTIR dibuktikan dengan adanya serapan pada panjang gelombang 1384 nm.

# D. Analisis Aktifitas Antioksidan dengan DPPH

Penentuan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode serapan radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, cepat, mudah dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk skrining aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis (Marxen et al., 2007). Prinsip dari metode ini adalah mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan pengukuran aktivitas perendaman radikal DPPH oleh ekstrak metanol buah kurma ajwa menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas perendaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> (Inhibitory concentration). Dalam melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah kurma ajwa dengan metode DPPH perlu dilakukan beberapa tahap terlebih dahulu seperti penentuan panjang maksimum selanjutnya dilakukukan gelombang pengukuran potensi antioksidan pada sampel.

#### 1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan tertinggi. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengukur absorbansi DPPH pada panjang gelombang 515-518 nm, selanjutnya dipilih panjang gelombang yang memiliki serapan paling besar. Hasil yang diperoleh dari uji penentuan panjang gelombang maksimum DPPH pada kosentrasi 100 ppm adalah 517 nm. Hal tersebut sesuai dengan jurnal yang dikemukakan oleh Rizkayanti *et al.*, 2017 bahwa panjang gelombang 517 nm merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Panjang gelombang maksimum akan memberikan serapan paling optimal dari larutan uji dan memberikan kepekaan yang paling besar, sehingga diharapkan dapat diperoleh nilai absorbansi yang

optimal pada sampel (Rizkayanti *et al.*, 2017). Setelah diperoleh nilai serapan panjang gelombang maksimum selanjutnya dilakukan pengukuran potensi antioksidan sampel.

# 2. Pengukuran potensi antioksidan pada sampel

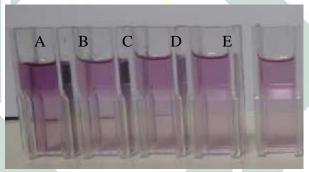
Pengujian potensi antioksidan pada sampel ekstrak metanol buah kurma ajwa menggunakan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm. Variasi konsentrasi tersebut disesuaikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Saha et al., 2017. Metanol p.a. sebagai blanko digunakan untuk membuat kalibrasi alat sehingga konsentrasi dimulai dari titik nol (Kusnadi, 2017). Kontrol negatif yang digunakan berupa larutan DPPH 100 ppm. Kontrol negatif sangat diperlukan karena berguna sebagai pembanding dalam menentukan potensi antioksidan sampel (Arindah, 2010). Kontrol negatif juga berfungsi untuk mengetahui absorbansi radikal DPPH sebelum direduksi oleh sampel. Selisih absorbansi sampel yang telah direduksi DPPH dengan absorbansi blanko merupakan sisa radikal DPPH yang terbaca pada spektrofotometer Uv-Vis. Semakin besar selisihnya maka semakin besar aktivitas antioksidan sampel. Pengujian aktivitas antioksidan diinkubasi pada suhu 37°C karena pada suhu ini reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa metabolit sekunder berlangsung lebih optimal (Rohmaniyah, 2016).

Aktivitas antioksidan secara fisik dapat diamati dengan adanya perubahan warna pada DPPH. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memiliki warna ungu (Rizkayanti *et al.*, 2017). Warna ungu akan berubah menjadi ungu muda atau kuning ketika DPPH dicampur dengan senyawa bahan alam yang dapat mendonorkan atom hidrogen (Syaifuddin, 2015). Penangkapan atom hidrogen menyebabkan ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan intensitas warna dan absorbansi. Reaksi yang terjadi antara DPPH dan senyawa antioksidan disajikan pada Gambar 5.9.

Gambar 5.10 Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan membentuk DPPH-H

Sumber: Syaifuddin, 2015

Semakin tinggi konsentrasi sampel maka warna ungu DPPH semakin pudar. Larutan DPPH yang telah ditambah ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) mengalami perubahan warna dari ungu menjadi ungu pudar. Perubahan warna ini dapat diamati pada Gambar 5.10.



Gambar 5.11 :Perubahan warna DPPH setelah ditambah

ekstrak metanol kurma ajwa.

Sumber :Dokumen pribadi Keterangan :A.DPPH 100 ppm

> B.DPPH+Ekstrak 20 ppm C.DPPH+Ekstrak 40 ppm D. DPPH+Ekstrak 60 ppm E.DPPH+Ekstrak 80 ppm

Perubahan warna tersebut menandakan bahwa ekstrak metanol buah kurma ajwa memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Pengurangan intensitas warna dari konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, hingga 80 ppm menandakan adanya peningkatan kemampuan antioksidan ekstrak metanol buah kurma ajwa dalam menangkap radikal DPPH. Hal tersebut dapat dilihat dari semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol buah kurma ajwa, maka warna ungu DPPH semakin pudar.

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dapat diketahui melalui pengukuran penyerapan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi merupakan nilai konsentrasi sampel yang didapatkan dari cahaya yang diteruskan/ melewati sampel (Hasibuan, 2015). Hasil pengukuran absorbansi ekstrak metanol buah kurma ajwa dapat diamati pada Tabel 5.3.

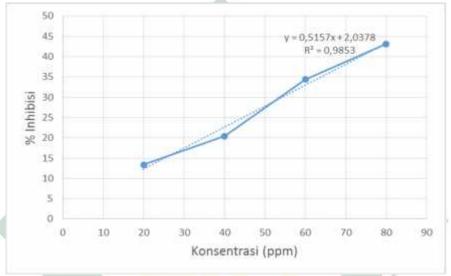
Tabel 5.3. Hasil absorbansi dan % inhibisi uji aktivitas antioksidan

| No. | Konsentrasi | Keterangan                   | Absorbansi | % Inhibisi  |
|-----|-------------|------------------------------|------------|-------------|
|     | (ppm)       |                              |            |             |
| 1   | Blanko      | DPPH 100 ppm                 | 0,6134     |             |
| 2   | 20 ppm      | DPPH 100 ppm + estrak 20 ppm | 0,5314     | 13,36811216 |
| 3   | 40 ppm      | DPPH 100 ppm + estrak 40 ppm | 0,488      | 20,44343006 |
| 4   | 60 ppm      | DPPH 100 ppm + estrak 60 ppm | 0,4026     | 34,3658298  |
| 5   | 80 ppm      | DPPH 100 ppm + estrak 80 ppm | 0,3699     | 43,10401043 |

Berdasarkan tabel 5.3 diketahui bahwa bertambahnya konsentrasi ekstrak menyebabkan absorbansi sampel semakin menurun dan % inhibisi meningkat. Penurunan absorbansi tersebut dikarenakan elektron DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari ekstrak metanol buah kurma ajwa yang mengakibatkan adanya pemudaran warna DPPH dari ungu tua menjadi ungu muda (Pramesti, 2013; Julfitriyani, 2016). Persen inhibisi meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa pada sampel yang menghambat radikal bebas DPPH (Pramesti, 2013). Persen inhibisi (% aktivitas antioksidan) merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas (Rahayu et al., 2010). Berdasarkan tabel di atas diperoleh hasil %inhibisi tertinggi yaitu pada konsentrasi 80 ppm sebesar 43,10401043.

Parameter yang digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan senyawa sebagai antioksidan yaitu nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk menangkap radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> dapat diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan (x) dengan % inhibisi (y). Konsentrasi sampel dihitung dengan

antilog nilai x yang diperoleh yaitu dengan cara memasukkan angka 50 sebagai y dalam persamaan regresi linier yang diperoleh dari grafik log konsentrasi dengan %inhibisi. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka ekstrak tersebut semakin aktif sebagai senyawa antioksidan (Sadeli,2016). Grafik aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah kurma ajwa dapat diamati pada Gambar 5.12 di bawah ini.



Gambar 5.12. Grafik konsentrasi dan %inhibisi ekstrak metanol buah kurma ajwa
Sumber: Dokumen pribadi

Berdasarkan grafik tersebut dapat diamati bahwa persamaan regresi linier yang dihasilkan memiliki koefisien korelasi yang baik yaitu mendekati 1 ( $R^2$ =0,9853). Nilai  $R^2$  menggambarkan linieritas konsentrasi terhadap % inhibisi. Nilai  $R^2$  yang mendekati 1 menandakan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak, semakin meningkat pula aktivitas antioksidannya (Prawirodiharjo, 2014). Persamaan regresi linier dihitung menggunakan Ms. Excel dengan hasil y=0,5157x + 2.0378 sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$  yang sebesar 4,650 ppm.

Berdasarkan hasil nilai  $IC_{50}$  tersebut artinya ekstrak metanol buah kurma ajwa memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat sebagaimana dijelaskan dalam penelitian Syaifuddin, 2015 bahwa suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50

ppm, kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 150-200 ppm (Syaifuddin, 2015). Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> suatu senyawa maka semakin kuat pula aktifitas antioksidan senyawa tersebut karena dengan konsentrasi yang kecil mampu menghambat radikal bebas DPPH dengan baik. Berdasarkan perhitungan IC<sub>50</sub> ekstrak metanol buah kurma ajwa memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed *et al.*, 2016 mengenai kandungan kurma ajwa yang diketahui melalui analisis HPLC. Kurma ajwa positif mengandung senyawa quercetin, asam gallat, asam p-coumaric, asam m-coumaric, asam ferulic dan vitamin C, dimana semua senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai antioksidan (Ahmed et al., 2016).

Aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol buah kurma ajwa juga diduga karena berdasarkan uji fitokimia ekstrak tersebut positif mengandung senyawa triterpenoid, falavonoid dan tanin. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa triterpenoid diketahui memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan (Ulfa, 2016). Senyawa tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan. Produk radikal bebas yang terbentuk pada senyawa tanin tersebut akan terstabilkan oleh resonansi sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan yang efektif (wijaya, 2011).

Senyawa fenol memiliki gugus OH yang berikatan dengan benzena. Gugus OH bersifat asam lemah dikarenakan memiliki ikatan yang labil (cenderung untuk melepaskan diri), sedangkan radikal DPPH tersusun dari benzena. Benzena memiliki cincin yang memiliki resonansi sehingga sukar bereaksi/ diadisi. Hal tersebut menyebabkan senyawa polifenol mudah untuk mendonorkan atom hidrogennya.

Triterpenoid, falvonoid dan tanin merupakan turunan senyawa fenolik yaitu senyawa yang memiliki banyak gugus hidroksi (OH). Senyawa fenolik ini mempunyai kemampuan untuk mendonorkan atom hidrogen sehingga radikal bebas DPPH dapat direduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. Fitriyani 2009 menyebutkan bahwa flavonoid merupakan golongan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan alami.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan dapat secara langsung maupun secara tidak langsung. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menstabilkan radikal bebas yang reaktif dan bertindak sebagi penangkal radikal secara langsung (Prawirodiharjo, 2014). Flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung bekerja di dalam tubuh dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme seperti peningkatan ekspresi gen antioksidan melalui aktivitas nuclear factor eryhtrid 2 related factor 2 (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti SOD (Superoxide dismutase) (Prawirodiharjo, 2014). Senyawa triterpenoid, flavonoid dan tanin merupakan kelompok antioksidan skunder. Mekanisme antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen selular (Sayuti & Rina, 2015).

Antioksidan senyawa fenolik dapat menghentikan atau menghambat tahapan inisiasi dengan cara bereaksi dengan radikal asam lemak atau menghambat propagasi dengan cara bereaksi dengan radikal peroksi atau radikal alkoksi. Oleh karena itu semakin tinggi kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak akan memberikan penghambatan peroksida lebih besar (Prawirodiharjo, 2014).

# E. Skrining Potensi Antikanker dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode uji ketoksikan yang memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antitumor/antikanker (Sukardiman, 2004). Korelasi positif ditunjukkan antara

uji BSLT dan sitotoksisitas pada sel nasofaring karsinoma (Solis *et al.*, 1993). Metode BSLT dipilih karena tidak membutuhkan waktun lama, mudah, murah, akurat dan membutuhkan sampel sedikit. Uji BSLT memiliki korelasi positif dengan aktivitas antikanker menggunakan kultur sel kanker dan memiliki tingkat kepercayaan hingga 95% (Prawirodiharjo, 2014). Hewan uji yang digunakan adalah *Artemia salina* karena memiliki respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia, seperti *DNA dependent RNA polymerase* dan organisme ini memiliki sebuah sistem *transport Na+ dan K+ dependent ATPase*.

Persiapan yang harus dilakukan sebelum melakukan uji BSLT adalah menetaskan telur Artemia salina (kista). Proses penetasan Artemia salina membutuhkan aerator sebagai sumber oksigen serta dilakukan dalam suhu ruang. Penetasan membutuhkan waktu 24-48 jam. Hewan uji yang digunakan berusia 48 jam karena telah memiliki saluran pencernaan yang lengkap sehingga peka terhadap suatu zat yang masuk.

Larva udang yang telah menetas dan dibiarkan selama 48 jam siap untuk dijadikan sampel. Sampel yang digunakan berjumlah 10 ekor pada masingmasing konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Konsentrasi tersebut dipilih karena sesuai dengan pernyataan bahwa jika nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak yang diuji kurang dari 1000 ppm maka dianggap toksik (Ramdhini, 2010), sehingga dipilih konsentrasi dari batas terendah hingga tertinggi untuk dapat dikatakan toksik.

Kontrol negatif yang digunakan berupa air laut tanpa adanya penambahan ekstrak guna untuk menguji ada tidaknya pengaruh air laut maupun faktor lain yang berpengaruh terhadap kematian larva, sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva hanya disebabkan oleh pengaruh ekstrak metanol buah kurma ajwa. Penelitian ini dilakukan tiga kali pengulangan (triplo) agar dperoleh data yang baik dan akurat. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam perlakuan. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4. Jumlah mortalitas larva udang Aratemia salina terhadap ekstrak metanol buah kurma ajwa

| Konsentrasi | Hidup |    |    | Mati |   |   | Rata-<br>rata<br>Hiup | Rata-<br>rata<br>Mati |
|-------------|-------|----|----|------|---|---|-----------------------|-----------------------|
| 0 ppm       | 10    | 10 | 10 | 0    | 0 | 0 | 10                    | 0                     |
| 1 ppm       | 10    | 9  | 10 | 0    | 1 | 0 | 10                    | 0                     |
| 10 ppm      | 10    | 10 | 10 | 0    | 0 | 0 | 10                    | 0                     |
| 100 ppm     | 10    | 10 | 10 | 0    | 0 | 0 | 10                    | 0                     |
| 200 ppm     | 9     | 10 | 9  | 1    | 0 | 1 | 9                     | 1                     |
| 500 ppm     | 9     | 8  | 8  | 1    | 2 | 2 | 8                     | 2                     |
| 1000 ppm    | 8     | 8  | 9  | 2    | 2 | 1 | 8                     | 2                     |

Tabel 5.5 Hasil perhitungan Log konsentrasi (Log C) serta % mortalitas menggunakan Ms.Excel.

| No | konsentrasi<br>(c)<br>ppm | Log C   | jmlh<br>awal | jmlh<br>mati | %<br>Mortalitas | probit |
|----|---------------------------|---------|--------------|--------------|-----------------|--------|
| 1  | 1000                      | 3       | 10           | 2            | 20              | 4,1584 |
| 2  | 500                       | 2,69897 | 10           | 2            | 20              | 4,1584 |
| 3  | 200                       | 2,30103 | 10           | 1            | 10              | 3,7184 |
| 4  | 100                       | 2       | 10           | 0            | 0               | 0      |
| 5  | 10                        | 1       | 10           | 0            | 0               | 0      |
| 6  | 1                         | 0       | 10           | 0            | 0               | 0      |

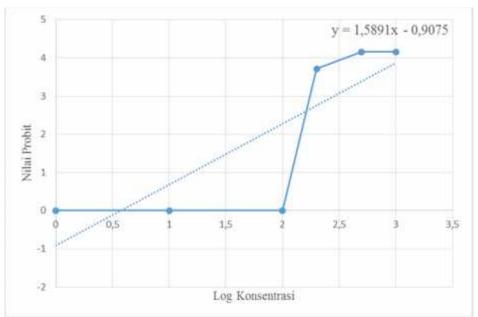
Berdasarkan tabel di atas, diperoleh hasil perhitungan nilai slope dan intersept menggunakan aplikasi *Microsoft Office Excel* sebagai berikut:

Slope = 1,58911427

Intercept = -0.9075095

Intercept merupakan nilai rata-rata pada variabel y apabila nilai pada variabel x bernilai no (0). Sedangkan Slope merupakan koefisien regresi untuk variabel x.

Persamaan garis lurus antara y (nilai probit dari % kematian) dan x (log konsentrasi) yang diperoleh berdasarkan hasil data di atas yaitu y=1,5891x - 0,9075, sehingga didapatkan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 5217,138 ppm.



Gambar5.13. Grafik regresi linier ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap nilai probit.

Sumber :Dokumen pribadi

LC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi dimana suatu ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji yang diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier (Prawirodiharjo, 2014). nilai LC<sub>50</sub> dapat dihitung dari persamaan garis lurus dengan memasukkan nilai probit 50 (probil dari 50% kematian hewan uji sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC<sub>50</sub> (Priyanto, 2009).

Berdasarkan perhitungan nilai LC<sub>50</sub> diketahui bahwa ekstrak metanol buah kurma ajwa tidak menunjukkan potensi sebagai antikanker kareana nilai LC<sub>50</sub>>1000 ppm. Hal ini sesuai dengan pernyataan Meyer, 1982 bahwa senyawa dengan nilai LC<sub>50</sub><100ppm dianggap sangat toksik, sedangkan nilai LC<sub>50</sub><1000 ppm dianggap toksik dan nilai LC<sub>50</sub>>1000 ppm dinyatakan tidak toksik (Meyer,1982). Ekstrak yang bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining aawal terhadap senyawa bioaktif yang diduga berkhasiat sebagai antikanker (Ramdhini, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui bahwa ekstrak metanol buah kurma ajwa tidak memiliki efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina*  ketika diuji dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test), yang artinya eksrtrak metanol buah kurma diketahui belum memiliki potensi sebagai antitumor atau antikanker. Tidak ada potensi sebagai antikanker pada ekstrak metanol buah kurma ajwa diduga karena ekstrak metanol kurma ajwa tidak mengandung senyawa flavonoid spesifik seperti prenylated flavonoid (senyawa flavonoid yang mengandung tambahan rantai isoprenoid/ ditambah 5 atom karbon C pada gugus fenol) seperti norartocarpin dan albanin, pinostrobin diketahui berpotensi sebagai senyawa antitumor atau antikanker (Arung et al., 2009; Parwata, 2014). Pinostrobin memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 63,9 ppm. Pinostrobin dapat menghambat enzim DNA Topoisomerase yang berperan untuk proses replikasi, transkripsi, proliferasi sel kanker. Dengan dihambatnya enzim topoisomerase oleh senyawa inhibitor maka terjadinya ikatan oleh enzim dengan DNA sel kanker semakin lama dan akan terbentuk protein linked DNA Breaks (PLDB) akibatnya terjadi kerusakan DNA sel kanker dan selanjutnya berpengaruh pada proses replikasi sel yang diakhiri dengan kematian sel kanker (Parwata, 2014). Dalam penelitian ini metabolit sekunder hanya diuji secara fitokimia dan masih dalam bentuk ekstrak metanol belum dilakukan fragsinasi sehingga belum diketahui senyawa flavonoid jenis apa yang terkandung di dalam ekstrak.

Berdasarkan jurnal yang dikemukakan oleh Dewiani, 2015 senyawa plisakarida dalam kurma ( -glukan) memiliki aktifitas sebagai antikanker yang diinduksikan ke dalam sel tumor *solid alogenik sarkoma 180* pada tikus betina CDI (Dewiani, 2015). Tidak ada potensi antikanker pada ekstrak metanol buah kurma ajwa kemungkinan dikarenakan oleh senyawa tersebut tidak dapat tertarik oleh pelarut metanol ketika diekstraksi. Sehingga perlu dikembangkan penelitian lanjutan dengan metode dan pelarut yang berbeda. Berdasarkan penjelasan di atas, sesungguhnya Allah telah menerangkan dalam Al-qur'an supaya kita mencari tahu manfaat dari tumbuh-tumbuhan yang telah diciptakan oleh Allah agar kita semakin bertakwa di dalam ayat berikut:

# وَلَمْ رَوْا الِّي الزَّرْضِ كُمْ أَنْبَلْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كُرِيمٍ

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik" (QS. As-Syu'ara: 7).

وَهُوَ ٱلَّذِى أَنزَلَ مِنَ السَّمَآءِ مَآءَ فَأَخُرَجْنَا بِهِء نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخُرَجْنَا بِهِء نَبَاتُ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخُرَجْنَا مِنْهُ حَبَّا مُتَرَاحِبًا وَمِنَ النَّخْلِ فَأَخْرَجُنَا مِنْهُ حَبَّا مُتَرَاحِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْمِهَا قِنْوَانُ دَانِيَةٌ وَجَنَّنتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَٱلزَّيْتُونَ وَٱلرُّمَّانَ مُسْتَبِهَا وَغَيْرَ مُتَشَيْبِةٌ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا آثَمُرَ وَيَنْعِهُ وَإِنَّ فِي مُشْتَبِهَا وَغَيْرَ مُتَشَيْبِةٌ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا آثُمْرَ وَيَنْعِهُ وَإِنَّ فِي فَاللَّهُ اللَّهُ مُنْ اللَّهُ اللللْمُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللِّهُ الللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللللْمُ اللَّهُ اللَّهُ اللللللَّةُ اللللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ اللَّهُ الللللْمُ اللَّهُ

Artinya: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tandatanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman" (Alan'am: 99)

# **BAB VI**

#### **PENUTUP**

# A. Simpulan

- 1. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 4,650 ppm.
- 2. Skrining potensi antikanker ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan metode BSLT menunjukkan bahwa ekstrak belum berpotensi sebagai antitumor/antikanker dengan nilai LC<sub>50</sub>>1000 ppm yakni LC<sub>50</sub> 5217,138 ppm.

#### B. Saran

- 1. Skrining potensi antikanker pada ekstrak metanol buah kurma ajwa menujukkan hasil negatif kemungkinan dikarenakan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker belum terekstrak oleh pelarut metanol sehingga perlu dilakukin penelitian lanjutan dengan pelarut dan teknik maserasi yang berbeda.
- 2. Perlu dilakukan publikasi ke masyarakat mengenai kandungan antioksidan pada buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) agar masyarakat mengkonsumsi buah kurma ajwa untuk menjaga kesehatan tubuh dan mencegah efek negatif dari radikal bebas.

# **DAFTAR PUSTAKA**

- Adzani S.B. 2015. Hubungan Pemberian Kurma (*Phoenix dactylifera L.*) Varietas Ajwa Terhadap Kadar LDL Darah. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatulloh, Jakarta.
- Agbon, A.N., Helen O.K., Wilson O.H., & S.J. Sambo. 2014. Toxicological Evaluation of Oral Administration of *Phoenix dactylifera L*. Fruit Extract on the Histology of the Liver and Kidney of Wistar Rats. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* .6: 122-129.
- Ahmed, M.B., Nabil Abdel-Salam Hasona & Hanan Abdel-Hamid Selemain. 2008. Protective Effects of Extract from Dates (*Phoenix Dactylifera* L.) and Ascorbic Acid on Thioacetamide-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 7: 193-201.
- Ahmed, A., Arshad, M. U., Saeed, F., Ahmed, R. S., & Chatha, S. A. S. 2016. Nutritional probing and HPLC profiling of roasted date pit powder. *Pakistan Journal of Nutrition*, 15(3), 229.
- Aji R.M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Daging Daun Lidah Buaya (Aloe vera) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenil-2-Picrylhydrazyl). *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta.
- Ajrina Aulia. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun *Garcinia benthami Pierre* Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatulloh, Jakarta.
- Akbar, HR. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Al Harthi, S. S., Mavazhe, A., Al Mahroqi, H., & Khan, S. A. 2015. Quantification of phenolic compounds, evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity of four date (Phoenix dactylifera L.) varieties of Oman. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 10: 346-352.
- Amrun, M., Umiyah, & Umayah, E., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) dari daerah Jember. Berk. Penel. Hayati. 13:45-50.
- Angelina, M., Hartati, S., Dewijanti, I.D., Banjarnahor, S.D.S., & Meilawati, L. 2008. Penentuan LD<sub>50</sub> Daun Cinco (*Cyclea barbata* Miers.) pada Mencit. *Makara Sains*. 12: 23-26.

- Arshad, F. K., Haroon, R., Jelani, S., & Masood, H. B. 2015. A relative in vitro evaluation of antioxidant potential profile of extracts from pits of Phoenix dactylifera L.(Ajwa and Zahedi dates). *Int J Adv Inf Sci Technol*, *35*: 28-37.
- Artini, P. E. U. D., Astuti, K. W., Warditiani, N. K. 2013. Uji fitokimia ekstrak etil asetat rimpang bangle (Zingiber purpureum Roxb.). Retrieved from http://ojs.unud.ac.id/index.php/jfu/article/viewFile/7396/5646
- Asem, A., Nasrullah Rastegar-Pouyani & Patricio De Los Ríos-Escalante. 2010. The Genus *Artemia* Leach, 1819 (*Crustacea: Branchiopoda*) True and false Taxonomical Description. *Lat. Am. J. Aquat.* Res. 38: 501-506.
- Astarina N.W.G., Astuti K.W., Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle *Zingiber purpureum* Roxb. *Jurnal Farmasi Udayana*. 2.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur,8: 53-61.
- Balafif, R. A. R., Andayani, Y., & Gunawan, E. R. 2013. Analisis senyawa triterpenoid dari hasil fraksinasi ekstrak air buah buncis (Phaseolus vulgaris Linn). *CHEMISTRY PROGRESS*, 6(2).
- Baud, G.S., Sangi, M.S. & Koleangan. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jurnal Ilmiah Sains, 14: 106-112.
- Bawa, I.G.A.G. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*. 2: 117-124.
- Bracke, Marc E, Eric A. Bruyneel, Stefan J. Vermeulen, Krist'l Vennekens, Veerle Van Marck, and Marc M. Mareel. (1994). Citrus Flavonoid Effect on Tumor Invasion and Metastasis. Food Tech: 121-124
- Dewiani Kurnia. 2015. Antioksidan pada Kurma sebagai Terapi Alternatif Kanker. Simposium Workshop Nasional Pengembangan Pendidikan dan Pelayanan Kebidanan Indonesia. 2:105-109.
- Djamil A.S. 2016. Kurma Indonesia: Perintisan dan Eksplorasi Kurma untuk Ketahanan Pangan, Kesejahteraan dan Kesehatan Rakyat Indonesia. Bogor, Indonesia.
- Frengkil R., & Desi Pertiwi. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh (*Mymercodia* sp.) dengan Metode BSLT terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Medika Veterinaria*. 8:1-3.

- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., & Nuri, N. 2011. Anti-inflammatory Activityy of Piper crocatum Ruiz & Pav. Leaves metanolic extract in rats. Traditional Medicine Journal, 16: 34-42.
- Gangwar, A.K., Ashoke, K.G., & Vikas Saxena. 2014. Standarization and Anticeluler Activity of Phoenix dactylifera Linn Leaves. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3: 1164-1172.
- Hamad.I., Hamada A., Soad Al Jaouni., Gaurav Zinta., Han Asard., Sherif Hassan., Momtaz Hegab., Nashwa Hagagy & Samy. 2015. Metabolic Analysis of Various Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera L.*) Cultivars from Saudi Arabia to Assess Their Nutritional Quality. *Molecules.* 20: 13620-13641.
- Hammado, N., & Illing, I. 2015. Identifikasi Senyawa Bahan Aktif Alkaloid pada Tanaman Lahuna (Eupatorium odoratum). *Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 4(2).
- Hanifah Nur Zaki. 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Sirsak (Annona muricata) terhadap Larva Artemia salina dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran dan Keseshatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Hayati Alfiah. 2011. Spermatologi. Pusat Penerbitan dan Percetakaan Unair, Surabaya.
- Handayani, P. A., & Nurcahyanti, H. 2014. Ekstraksi Minyak Atsiri Daun Zodia (Evodia Suaveolens) dengan Metode Maserasi dan Distilasi Air. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 3: 1-7.
- Hegde, K., Thakker. P.S., Joshi. A.B., Shastry. C.S., & Chandrashekhar. K.S. 2009. Anticonvulsant Activity of *Carissa carandas* Linn. Root Extract in Experimental Mice. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 8:117-125
- Ikalinus, R. S. K. Widyastuti, N. L. Eka Setiasih. 2015. Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (Moringa oleifera). Indonesia Medicinus Veterinus, 2015 4: 71-79.
- Julfitriyani., Max, R.R., & Defny W. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Etanol Dau Foki Sabarati (Solanum torvum). Jurnal Ilmiah Farmasi Pharmacon. 5: 95-101.
- Khaira Kuntum. 2010. Meangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. *Jurnal Sainstek*. 2: 183-187.

- Khan, F., Farid Ahmed., Peter, N.P., Adel, A., Taha, K., Elie, B., Mohammed, A., & Kalamegam Gauthaman. 2016. Ajwa Date (*Phoenix dactylifera L.*) Extract Inhibits Human Breast Adenocarcinoma (MCF7) Cells In Vitro by Inducing Apoptosis and Cell Cycle Arrest. *Plos One*. 1: 1-17
- Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, and Taniguchi H 2002. Antioxidants properties of ferulic acid and its related compound, J. Agric.Food Chem. 50: 2161-2168.
- Kuchel, P., G. B. Ralston. 2006. Schaum's Easy Outlines Biochemistry; Jakarta, Indonesia. Penerbit Erlangga.
- Kusnadi, K., & Devi, E. T. 2017. ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVANOID PADA EKSTRAK DAUN SELEDRI (Apium graveolens L.) DENGAN METODE REFLUKS. *PSEJ* (Pancasakti Science Education Journal), 2(1).
- Langseth, L. 1995. Oxidants, Antioxidans, and Disease Prevention, International Life. Sciences Institutes (ILSI), Belgium, Europe.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil propanoida dan alkaloida. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida.
- Leong L.P., Shui, G., 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *Food Chemistry* **76**: 69-75.
- Lisdawati.F., Umali Wiryowidagdo, & Broto S. 2006. Brine Shrimp Lethalithy Test (BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Bul. Penel. Kesehatan. 34: 1-8
- Manthey, John A. and Najla Guthrie. 2002. Antiproliferatif Activities of Citrus Flavonoids against Six Human Cell Cancer Line. J. Agric. Food. Chem. (50): 5837-5843
- Meyer, B.N., Ferrighni., Putnam., Jacobson., Nichols & J.L Mclaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituent. Planta Medica.
- Marxen, K., Vanselow, K.H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A. & Hansen, U.P. 2007. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*, 7: .2080-2095.
- Minarno, E. B. 2016. ANALISIS KANDUNGAN SAPONIN PADA DAUN DAN TANGKAI DAUN Carica pubescens Lenne & K. Koch. *el–Hayah*, *5*(4): 143-152.
- Mudjiman, A. 1995. *Makanan Ikan*. PT. Penerbit Swadaya, Jakarta.

- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Fraksinasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan. 7: 361-367.
- Ncube N.S., Afolayan A.J., & Okoh A.I. 2008. Assessment Techniques of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plant Origin: Current Methods and Future Trends. *African Journal of Biotechnology*. 7.
- Obrigon & Alvaro., 2010. Chronix Toxicity Biossay With Populations Of The Crustacean Artemia salina Exposed To The Organophosphate Diazinon. Biological Reasearch Articles School of Medicine Universitas Of Chile Santiago.
- Pramesti, R. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Caulerpa serrulata Dengan Metode DPPH (1, 1 difenil 2 pikrilhidrazil). *Buletin Oseanografi Marina*, 2(2), 7-15.
- Pratimasari, D., 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Buah Carica papaya L. Dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenolik Serta Flavonoid Totalnya. *Dissertation*, Univerversitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Prawirodiharjo, E. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Syarif Hidayatulloh, Jakarta.
- Priyanto. 2009. Toksikologi Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko. Jakarta: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi Indonesia (LESKONFI). Halaman 1 -7.
- Purba, R. 2007 Analisis Fitokimia dan Uji Bioaktivitas Daun Kaca (Peperonia pellucida), Jurnal Kimia Wulawarman. Hal 1-7
- Purba, E.R. & Martosupono. 2009. Kurkumin Sebagai Senyawa Antioksidan. Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana. 5: 607-621.
- Ragab, A.R., Mohamed, A.E., Basem, Y., Sheik & H.N. Baraka. 2013. Antioxidant and Tissue Protective Studies on Ajwa Extract: Dates from Al Madinah Al-Monwarah, Saudia Arabia. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology*. 3: 1-8.
- Rahmani, A. H., Aly, S. M., Ali, H., Babiker, A. Y., & Srikar, S. 2014. Therapeutic effects of date fruits (Phoenix dactylifera) in the prevention of diseases via modulation of anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-tumour activity. *International journal of clinical and experimental medicine*, 7: 483.

- Ramdhini, N. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Artemia salina Leach*. dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus conoideus var. conoideus Lam.* Sebagai Kandidat Antikanker. Dissertation, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Redha, A. 2013. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis.
- Reynertson, K.A. 2007. Phytochemical Analysis of Bioactive Constituens From Edible Myrtaceae Fruit. *Dissertation*. The City University of New York, New York.
- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M., & Jura, M. R. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa Oleifera LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), 125-131.
- Rita, W. Susanah. 2010. Isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antibakteri Senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe). JURNAL KIMIA 4: 20-26
- Robinson, J. W., E. M. Skelly Frame, G. M. Frame II. 2005. "Undergraduate instrumental analysis" Sixth Edition; New York, USA. Marcell Dekker.
- Road, S.H., R.A. Puram & Chennai. 2003. Artemia Culture. Indian Courl of Agricultural Research. Central Institute of Brackish Water Aqua Culture.
- Rohmaniyah M. 2016. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumput Bambu (*Lophatherum gracile Brongn*) menggunakan Metode DPPH serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sadeli, Richard A., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Ekstrak Bromelain Buah Nanas (Ananas comosus (L.) Merr.), Skripsi, Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma
- Sani, I.H., Nor, H.A.B., Mohd Adzim, K.R., Ibrahim, S., Maryam, I.U., & Nasir Mohamad. 2015. *Phoenix dactylifera* Linn as a Potential Antioxidant in Treating Major Opioid Toxicity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 5: 167-172.
- Satuhu, S. 2010 . Kurma Khasiat dan Olahannya. Penebar Swadaya, Depok.
- Sayuti Kesuma & Rina Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, Padang.
- Scherck James O & William M. Loffredo 1994. Qualitative Testing for Carbohydrates. *Modular Laboratory Program in Chemistry*. Chemical Education report. Amerika

- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, Mulyani, B., Rahmawati, C.P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus murr.) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. Prodi Pendidikan Kimia Jurusan FMIPA FKIP Universitas Surakarta
- Shabib, W., & Marshall. 2003. The Fruit of The Date Palm: Its Possible Use as The Best Food For Future. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 54: 247-259.
- Shahdadi, F., Mirzaei, H. O., & Garmakhany, A. D. 2015. Study of phenolic compound and antioxidant activity of date fruit as a function of ripening stages and drying process. *Journal of food science and technology*, 52: 1814-1819.
- Sholeh Siti, N. 2009. Uji Aktivitas Anti Bakteri dari Ekstrak n-Heksana dan Etanol Daun Sirih (*Piper Betle Linn*) serta Identivikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Kalijaga, Yogyakarta.
- Soebahar, E., Daenuri, E., & Firmansyah, A. 2015. MENGUNGKAP RAHASIA BUAH KURMA DAN ZAITUN DARI PETUNJUK HADIS DAN PENJELASAN SAINS. *ULUL ALBAB Jurnal Studi Islam*, 16: 191-214.
- Soemirat, J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Solis, P.N., Wright, C.W., Anderson, M.M., Gupta, M.F., Philipson, J.D. 1993. A Microwell Cytotoxicity Assay using Artemia salina (Brine Shrimp). Planta Medica. 59: 250-252.
- Sparingga, R.A. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara Invivo*. PerKBPOM, Jakarta.
- Silva, T.M., Nascimento, R.J., Batista, M.B., Agra, M.F., & Camara, C.A. 2007. Brine Shrimp Bioassay of Some Species of Solanum from Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 17: 35-38.
- Suherman, S., Hernani & Syukur. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Lempayung Gajah (*Zingiber zerumbet*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina Leach*). *BulLittro*. 17: 30-38.
- Sukardiman, A.R & Pratiwi, N.F. 2004. Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cf. planiloba Steph*. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga*, 4.

- Sulastri Feni. 2009. Uji Toksisitas Akut yang Diukur Dengan Penentuann LD<sub>50</sub> Ekstrak Daun Pegangan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Mencit BALB/C. TA. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Suteja, I. K. Pater, W. Susanah Rita, I. W. Gede Gunawan. 2016. Identifikasi dan uji aktivitas senyawa flavonoid dari ekstrak daun trembesi (Albizia saman (Jacq.) Merr) sebagai antibakteri Escherichia coli. JURNAL KIMIA 10: 141-148.
- Syahril, Ardianti. 2015. isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol daun pecut kuda. Retrieved from http://kim.ung.ac.id/index.php/KIMFMIPA/article/download/9793/9674
- Syaifuddin, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera amoena voss.*) Segar dan Rebus dengan Metode DPPH. *Dissertation*, UIN Walisongo. Semarang.
- Tamat, S. R., Wikanta & L. S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata Forsskal. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5: 31-36.
- Tetti, M., 2014. Ekstraksi Peamisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan. 7.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica sciencia*, 1: 98-106.
- Ulfa Siti Maria. 2016. Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Antioksidan dalam Bekatul dengan Menggunakan Variasi Pelarut. *Skrips*i. Jurusan kimia. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malik Ibrahim, Malang.
- Umayah, E.U. & Amrun. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus Undatus* (Haw.) Britt. & Rose). *Jurnal Ilmu Dasar*, 8: 83-90.
- Wachidah, L.N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan serta Penentuan Kandungan Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3: 59-68.
- Widiyati, Eni. 2006. Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan uji aktifitas Biologi pada beberapa spesies tanaman obar tradisional masyarakat pedesaan bengkulu. Jurnal gradien, 2: 116-122

- Wijaya, A. 2011. Zat Warna Alam dalam Daun Asam Jawa (*Taramindus indica* L.) sebagai pewarna alam pada bahan tekstil. *Skripsi*. Bandung: ITB
- Williams, J.R., & Avin E. Pillay. 2011. Metals, Metalloids and Toxicity in Date Palms. *Potential Environmental Impact*. 2: 592-600.
- Winarsih, S. 2007. *Mengenal dan Membudidayakan Buah Naga*. Aneka Ilmu, Semarang.
- Wirasuta I.M.A.G., & Rasmaya N., 2006. *Toksikologi Umum*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Udayana, Bali. <a href="http://www.academia.edu/8470304/jurnal\_karbohidrat">http://www.academia.edu/8470304/jurnal\_karbohidrat</a>
- Zhang, W.; Li, C.; You, L.S.; Fu, X.; Chen, Y.S.; Luo, Y.Q.2014 Structural Identification Of Compounds From Toona sinensis Leaves With Antioxidant And Anticancer Activities. School of Light Industry and 35 Food Sciences, South China University of Technology, 381 Wushan Road, Guangzhou: China. Journal of Functional Foods, 427-435

