

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penelitian Terdahulu

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu

Nama peneliti	Judul penelitian	Hasil penelitian terdahulu	Persamaan dan perbedaandengan penelitian terdahulu
Olaniran, 2017	<i>Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Activities in the Leaf, Stem and Fruit Fractions of Basella Alba and Basella Rubra Plant</i>	Kadar fenolik total basella berkisar antara 0,4 dan 5,07 mg/g GAE.	Persamaan dengan penelitian sebelumnya adalah prinsip penetapan kandungan senyawa fenolik. Perbedaan dari penelitian ini dengan penelitian terdahulu yaitu pada pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi.
Betty Lukiaty,2014	<i>Penentuan Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Fenol Totalekstrak Daun Gendola (Basella Rubra Linn) Dan Daun Binahong (Anredera Cordifolia Stennis) Sebagai Kandidat Obat Herbal.</i>	Berdasarkan hasil riset menunjukkan bahwa Nilai IC50 dengan metode DPPH sebesar 84.70 ppm sedangkan daunbinahong diperoleh IC50sebesar 180,16 ppm.	Persamaan dari penelitian sebelumnya adalah prinsip darimetode uji aktivitas antioksidan yang digunakan sedangkan perbedaan penelitian ini dengan sebelumnya adalah tanaman bagian tanaman yang digunakan.
Reshmi and Aravintan, 2012	<i>Antioxidant analysis of betacyanin extracted from Basella alba fruit</i>	Berdasarkan hasil riset evaluasi kandungan total betasianin dan aktivitas antioksidan dengan metode ABTS diperoleh hasil yang sangat baik dengan nilai 47,75 ppm.	Persamaan dari penelitian sebelumnya adalah prinsip dari metode uji antioksidan yang digunakan serta famili dari tanaman yang digunakan,sebaliknya perbedaan dari penelitian ini dengan sebelumnya yaitu penentuan kadar senyawa yang digunakan, pada penelitian sebelumnya yaitu kadar betasianin sedangkan penelitian ini kadar fenolik total.

B. Landasan Teori

1. Klasifikasi dan Morfologi

Gendola hijau adalah tanaman merambat abadi yang kadang-kadang ditanam sebagai sayuran. Batangnya sukulen, dan daunnya halus. Ini adalah sayuran daun untuk halaman dan untuk dijual yang tumbuh dengan cepat dan menghasilkan dengan baik. Batang ungu, terutama varietas dengan batang merah, kaya akan vitamin A dan C. Tumbuh dengan subur pada lingkungan yang kering dan lembab. Suhu rendah membatasi perkembangan tanaman dan menghasilkan daun kecil. Tanaman yang ditanam di tempat teduh memiliki daun yang lebih lebar daripada yang ditanam di tempat terang. Pembungaan terjadi ketika lampu dinyalakan selama lebih dari 13 jam. Gendola sangat mungkin dibudidayakan di berbagai jenis tanah seperti tanah lempung berpasir, terutama apabila diberi dengan bahan organik, lebih disukai. PH tanah harus antara 5,5 dan 8,0. Daun berbentuk hati dan batang ramping dari tanaman gendola memiliki batang yang tebal dan beludru. Daunnya tebal, berkerut, dan berkerut, berair, dan berwarna-warni, dan warnanyabisa hijau atau ungu (Phadungkit et al., 2012).



Gambar 2. 1 Daun (A) dan buah (B) gendola (Sumber : worldfloraonline.org,2021)

Berdasarkan (World Flora Online, 2021), tumbuhan gendola hijau diklasifikasikan menjadi sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

Ordo : Caryophyllales

Famili : Basellaceae

Genus : *Basella*

Spesies : *Basella alba* L.

Kualitas antioksidan dari tanaman gendola hijau dapat membantu menghambat radikal bebas dalam tubuh, yang dianggap bertanggung jawab atas berbagai gangguan degeneratif dan penuaan dini. Zat kimia yang ditemukan dalam gendola, termasuk alkaloid, saponin, fenol, steroid, terpenoid, dan flavonoid, bertanggung jawab atas kualitas antioksidannya (Nirmala et al., 2009).

Daunnya mengandung kalsium tingkat tinggi dan kaya akan vitamin seperti A, C, thaimin, riboflavin, niasin, dan betasianin, asam oksalat, flavonoid seperti acacetin, 4,7-dihidroksi kempferol dan 4'-methoxyisovitexin dan juga asam fenolik seperti vanili, asam syringic dan ferulic. Buahnya mengandung betacyanin dan gomphrenin (Ozela et al., 2007). Berdasarkan penelitian (Reshmi and Aravinthan, 2012) buah gendola memiliki aktivitas antioksidan dari betasianin yang tinggi pada buahnya dan hal tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

2. Manfaat

Pucuk dan daun muda gendola mengandung kalsium, zat besi, vitamin A dan C, serta daun memiliki sifat antibakteri, antidiabetik, dan antiinflamasi sebagai tanaman obat.

Buah basela memiliki kandungan antosianin relatif tinggi dan umumnya bisa menahan perubahan pH, suhu, dan cahaya, menjadikannya sebagai pewarna makanan alami (Yulia et al., 2021). Gendola dimanfaatkan sebagai pengobatan beraneka penyakit seperti radang usus buntu, disentri, tinja berdarah, radang saluran kemih, nyeri buang air kecil, influenza, sembelit, maag, abses, cacar, nyeri, rematik, radang selaput lendir mata (Firdaus, 2009).

3. Fitokimia

Fitokimia adalah senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan dan dapat memberikan efek kesehatan pada manusia. Pada tumbuhan terdapat senyawa kimia bermolekul kecil yang penyebarannya terbatas dan sering disebut sebagai metabolit sekunder. Jumlah metabolit sekunder pada tanaman lebih sedikit dibandingkan dengan metabolit primernya (karbohidrat, lemak, protein) (Nur, 2011).

Menurut Nur (2011) uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder dari tumbuhan. Metabolit sekunder antara lain :

a. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam bentuk gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid pada tumbuhan dipercaya sebagai hasil metabolisme dan merupakan sumber nitrogen.

b. Saponin

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tumbuh-tumbuhan. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir.

c. Tannin

Merupakan senyawa yang memiliki jumlah gugus hidroksi fenolik yang banyak pada tumbuh-tumbuhan. Tannin dapat berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam menstabilkan fraksi lipid dan keaktifannya dalam penghambatan lipoksigenase.

d. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang dapat ditemukan di buah dan sayur. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul.

e. Triterpenoid/Steroid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuanisopropana dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena.

f. Glikosida

Glikosida merupakan salah satu senyawa aktif tanaman yang termasuk dalam kelompok metabolit sekunder. Senyawa ini mengandung komponen gula dan bukan gula. Komponen gula dikenal dengan nama glikon dan komponen bukan gula dikenal sebagai aglikon.

4. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul atau zat yang reaktif dan tidak stabil dengan satu atau lebih elektron yang tidak saling berpasangan. Radikal bebas bereaksi dengan zat lain karena elektron yang tidak selalu ingin untuk menemukan ikatan gandingan baru dengan elektron dari molekul sekitarnya (protein, lemak, atau DNA) (Najihudin et al., 2017). Faktor dari lingkungan, kebiasaan melakukan kegiatan merokok, menggunakan pestisida dalam makanan, polusi, radiasi, dan sinar UV matahari antara pukul 10.00 dan 15.00 merupakan penyebab dari radikal bebas dari luar tubuh. Radikal bebas juga mungkin diproduksi di dalam tubuh sebagai hasil dari aktivitas metabolisme. Oksidan diproduksi oleh respon inflamasi serta respirasi mitokondria. Pemberian makan yang berlebihan juga bisa menjadi sumber pemicu internal. Ini karena ketika dicerna, radikal bebas dibuat selain energi (Ardhie, 2011).

Berikut ini adalah beberapa contoh yang dibuat oleh tubuh dan yang diproduksi oleh lingkungan:

a. *Reactive Oxygen Spesies (ROS)*

Merupakan gabungan dari radikal bebas seperti anion superoksida (O_2^-), hidroksil (OH), alkoxy ($RO\cdot$), dan peroxy ($RO_2\cdot$), dan oksidator non-radikal atau zat yang sensitif terhadap perubahan radikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon (O_3), dan HOCl.

b. *Reactive Nitrogen Spesies (RNS)*

Terdiri dari nitrit (NO_2) dan nitrat (NO_3), serta molekul non-radikal seperti HNO_2 dan N_2O_4 . Kelebihan produksi NO dapat mengakibatkan stroke (Simanjuntak, 2012). ROS dapat menginduksi difusi sel dengan mencuri elektron dari lipid, protein, dan komponen DNA. Ketika sel-sel dalam tubuh kehilangan elektron, mereka menjadi radikal bebas, yang memicu reaksi berantai dari peristiwa serupa. Ini akan membantu menyembuhkan kerusakan sel, seperti penuaan kulit (Ardhie, 2011).

Tahapan terjadinya radikal bebas biasanya melalui 3 tahap reaksi yaitu dengan urutan seperti berikut : (Simanjuntak, 2012).

- 1) Langkah pertama pembentukan dari zat radikal bebas, yang disebabkan oleh berbagai peristiwa, dikenal sebagai tahap inisiasi. Asam lemak (RH) bercampur dengan oksigen triplet lalu radikal lemak ($R\cdot$), dan radikal peroksida ($HOO\cdot$) menggunakan sinar atau kalor sebagai inisiator selama langkah inisiasi.
- 2) Tahap propagasi : Ini adalah awal dari pemanjangan atau reaksi rantai radikal, di mana radikal bebas berubah menjadi radikal tambahan. Pada titik ini, radikal lipid ($R\cdot$) teroksidasi untuk menghasilkan radikal peroksida ($ROO\cdot$). Proses oksidasi sangatlah cepat dan hampir tidak membutuhkan energi.
- 3) Tahap terminasi : Senyawa radikal memiliki potensi propagasi terbatas karena reaksi dengan radikal lain atau pemulung radikal. Karena radikal bebas bereaksi dengan radikal lainnya titik ini, spesies non-radikal akan muncul, sedangkan hidroperoksida akan teruraikan menjadi produk seperti alkohol, asam keton, dan zat lain yang lebih stabil.

5. Antioksidan

Radikal bebas terbentuk dari penjabaran sistem pertahanan antara antioksidan dan enzim antioksidan preventif semacam katalase, superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan jenis lainnya seperti antioksidan non-enzimatik (antioksidan) seperti vitamin A, E, dan C. , glutathione, ubiquinone, dan flavonoid dalam tubuh (Sinaga, 2016) thymoquinone, statin, niasin, phycocyanin, beta karoten dan lain-lainnya (Simanjuntak, 2012).

Antioksidan adalah zat yang melengkapinya kekurangan dari elektron radikal bebas yang hilang dan memperlambat reaksi berantai yang mungkin menyebabkan stress oksidatif dengan menetralkan radikal bebas dan menahan kerusakan (Sari and Ayuhecarya, 2017). Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas tanpa menjadi zat radikal lain. Ketika antioksidan menerima atau memberi elektron ke radikal bebas, mereka tidak menjadi radikal bebas dan tetap stabil (Najihudin et al., 2017)

Nilai IC₅₀, yang menentukan konsentrasi zat antioksidan yang dapat memblokir radikal bebas hingga 50%, biasanya digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Semakin kuat kapasitas antioksidan, semakin rendah nilai IC₅₀ (Chaminda Jayapath et al., 2011).

Menurut Sayuti dan Yenrina (2015), Antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya dapat dibagi menjadi 3, yaitu :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampaknya negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk awal. Antioksidan primer adalah antioksidan yang sifatnya sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang bisa bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan mengubahnya

menjadi produk-produk yang lebih stabil. Contoh antioksidan primer adalah Superoksida Dismutase (SOD), Glutathion Peroksidase (GPx), katalase dan protein pengikat logam.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, β -karoten, isoflavon, bilirubin dan albumin. Potensi antioksidan ini dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan caramenangkapnya (*scavenger free radical*) sehingga radikal bebas tidak beraksi dengan komponen seluler.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya secara luas diseluruh dunia untuk digunakan dalam makanan adalah Butylated Hidroxyanisol (BHA), Butylated Hidroxytoluene (BHT) dan Tert-Butylated Hidroxyquinon (TBHQ).

6. Simplisia

Merupakan bahan dari alam kering yang belum diolah untuk keperluan terapi; kecuali disebutkan lain, suhu dalam proses pembuatan simplisia tidak lebih dari 60°C (Departemen Kesehatan RI, 2017). Simplisia digunakan menjuluki bahan-bahan obat alam yang berada dalam bentuk asli dan belum mengalami perubahan wujud (Gunawan, D and Sri, M, 2010). Simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral adalah 3 macam simplisia

Simplisia berbentuk tumbuhan lengkap, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan dikenal sebagai simplisia nabati (Nurhayati, 2008). Eksudat tumbuhan mengacu dari inti sel yang secara terang-terangan keluar atau diambil dari sel, serta senyawa nabati lain yang dipisahkan dari tumbuhan dengan cara tertentu (Melinda, 2014). Simplisia hewan sering kali berbentuk hewan lengkap, bagian tubuh hewan, atau bahan kimia berharga yang dibuat oleh hewan, daripada molekul kimia murni (Nurhayati, 2008). Contoh yang biasa kita lihat adalah madu ataupun minyak ikan (Gunawan, D and Sri, M, 2010).

7. Ekstraksi dan Ekstrak

Ekstrak merupakan zat kental, cair atau kering yang dibuat melalui cara menyaring simplisia dengan cara khusus, jauh dari sinar matahari. Ekstrak kering harus sederhana untuk digiling menjadi bubuk (Departemen Kesehatan RI, 2017). Ekstrak merupakan zat kental yang dibuat dengan melakukan mengekstraksi komponen aktif yang diambil simplisia nabati atau hewani dengan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau bubuk harus memenuhi persyaratan yang ditetapkan, menurut literatur lain (Departemen Kesehatan RI, 2008).

Ekstraksi adalah metode menghilangkan senyawa kimia larut dari bahan yang dapat larut menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif seperti atsiri dan lainnya yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat diklasifikasikan. Mengetahui bahan kimia aktif dalam simplisia akan membuat pemilihan teknik ekstraksi terbaik dan proses ekstraksi menjadi lebih mudah (Gunawan, D and Sri, M, 2010).

a. Metode Ekstraksi

1) Ekstraksi cara dingin

Ada beberapa metode ekstraksi, salah satunya adalah ekstraksi metode dingin (dalam labu besar yang diisi dengan biomassa dan diaduk dengan pengaduk), di mana bahan kering yang digiling diekstraksi dengan kondisi suhu ruangan menggunakan pelarut yang polaritasnya meningkat.

Ekstraksi dingin memiliki keunggulan dalam keseluruhan proses ekstraksi karena mengurangi risiko kerusakan bahan kimia termolabil sampel. Meskipun sebagian besar bahan kimia dapat diekstraksi melalui ekstraksi dingin, beberapa memiliki tingkat kelarutan terbatas dalam pelarut pada suhu ruangan.

Penggunaan zat alami dengan peningkatan polaritas yang signifikan memungkinkan pemisahan senyawa alami berdasarkan kelarutan dalam pelarut ekstraksi. Ini membuat prosedur isolasi jauh lebih mudah. Banyak bahan kimia dapat diekstraksi dengan ekstraksi dingin, sementara senyawa tertentu membutuhkan ekstraksi suhu kamar (Istiqamah, 2013)

a) Maserasi

Menurut (Harmita, dan Radji, M, 2008) Maserasi adalah proses sederhana yang melibatkan perendaman bubuk simplisia dalam pelarut. Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang melibatkan pengocokan atau pengadukan pelarut berkali-kali pada suhu kamar (Istiqamah, 2013). Kerugian dari maserasi adalah membutuhkan waktu yang lama. Sejumlah besar metabolit yang dapat diprediksi dari penemuan ini juga dapat diperoleh dengan ekstraksi menyeluruh. Beberapa bahan kimia juga diekstraksi secara efisien pada suhu kamar jika kelarutannya lemah (27°C). Karena ekstraksi dengan maserasi dijalankan pada suhu ruangan (27°C), metabolit tahan panas tidak terdegradasi (Fadhilaturrehmi, 2015).

b) Perkolasi

Kata perkolasi berasal dari kata Latin per (melalui) dan colare (bocor). Perkolasi adalah proses penyaringan dimana cairan filter dilewatkan pada serbuk simplisia basah. Peralatan ekstraksi dikenal sebagai perkolator, dan ekstrak yang telah didapatkan dikenal sebagai perkolat (Ansel, 1989). Hanya zat organik yang sangat larut terhadap pelarut yang digunakan akan meningkatkan efisiensi prosedur ini. Keuntungan dari pendekatan ini adalah ekstrak sampel tidak perlu dipisahkan, tetapi kelemahannya adalah pelarut menjadi dingin sepanjang proses, sehingga sulit untuk melarutkan bahan kimia dari sampel dengan benar (Darwis, 2000).

2) Ekstraksi Cara Panas (Ditjen POM, 2000)

a) Reflux

Refluks adalah metode ekstraksi panas (menggunakan pemanasan dalam prosesnya), dan definisi refluks secara umum adalah ekstraksi pada kondisi titik didih untuk jangka waktu terbatas dengan jumlah pelarut atau campuran yang cukup konstan dengan adanya pendinginan balik. Jenis ekstraksi ini dikenal sebagai ekstraksi ekstraktif. Biasanya, pendekatan ini digunakan untuk membuat bahan kimia yang mudah menguap atau mudah menguap. Jika pemanasan standar digunakan dalam situasi ini, pelarut akan mengalami penguapan sebelum reaksi berakhir. Prinsip dari metode refluks adalah bahwa pelarut yang mudah menguap akan digunakan untuk menguap pada suhu tinggi, tetapi juga akan memberikan solusi dengan kondensor, memungkinkan pelarut yang diuapkan mengalami pengembunan di kondensor dan jatuh kembali ke wadah reaksi, memungkinkan pelarut untuk konstan selama reaksi.

b) Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi yang menggunakan penyaringan dan pemanasan berulang. Pemanasan digunakan untuk memanaskan dan memanaskan sampel dalam proses sokletasi. Pelarut yang telah larut dalam sampel kemudian dipanaskan dan kemudian dikembalikan ke uap untuk mengeringkan sampel; ini menghemat waktu karena sampel selalu diedarkan. Metode ini berguna untuk zat yang tidak bisa dipengaruhi oleh kalor.

c) Digesti

Digesti berarti maserasi yang dilakukan dengan metode kinetik (pengadukan terus menerus) pada suhu kamar, yang biasanya dilakukan pada 40 hingga 50°C.

d) Infus

Ekstraksi menggunakan pelarut berupa air pada suhu kamar dikenal sebagai infus. Dalam penangas air, bejana infus tar dimasak selama 15-20 menit pada 96-98°C.

e) Dekok

Merupakan infus yang membutuhkan waktu yang relatif lama (temperatur lebih dari 30°C) dan dipanaskan sampai titik didih udara.

8. Fenolik



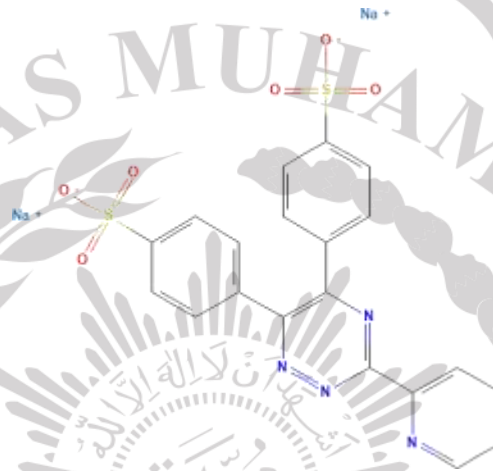
Gambar 2. 2 Struktur senyawa fenol (Pubchem, 2022).

Fenol adalah bahan kimia kristal yang tidak memiliki pigmen warna dan memiliki bau yang khas. Oksidasi zat fenol memungkinkan mereka untuk berperilaku sebagai agen pereduksi (Hoffman, M.R, 1997). Metabolit sekunder yang berada pada tumbuhan adalah fenol. Karena potensinya untuk mengais radikal bebas dan spesies oksigen seperti oksigen singlet, radikal bebas superoksida, dan radikal hidroksil, senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan dikenal sebagai antioksidan tingkat tinggi. Salah satu unsur yang penting dalam menentukan aktivitas antioksidan adalah senyawa fenolik total (Hanani, M.S.E., 2015). Meskipun fenol bebas sangat jarang ditemukan pada tumbuhan, fenol umumnya digabungkan dengan gula untuk membuat glikosida yang lebih larut dalam air dalam fenol sederhana yang keberadaannya lebih terbatas, seperti orsinol, katekol, piroglusinol, dan floroglusinol (Hanani, M.S.E., 2015).

9. Metode FIC (Ferrous Ion Chelating)

Beberapa senyawa bahan alam seperti kelompok senyawa flavonoid dan fenol memiliki kemampuan yang baik dalam mengkelat logam Fe^{2+} (Ebrahuzadeh, 2008). Pengkelatan adalah proses dimana beberapa zat kimia yang digunakan memiliki kemampuan untuk mengikat logam. FIC (*Ferrous Ion Chelating*) adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu senyawa dalam mengikat logam. Dimana nilai aktivitas *chelating* ion logam berbanding lurus dengan nilai aktivitas antioksidan suatu

senyawa (Končić *et al.*, 2011). Interaksi antara ferrozine dan bahan kimia antioksidan dalam mengikat ion logam merupakan mekanisme kerja pengkhat logam (Elmastaş *et al.*, 2006). Teknik FIC menilai kapasitas bahan kimia antioksidan untuk beralwanan dengan zat ferrozine dalam pembentukan kelat logam atau besi(Elmastaş *et al.*, 2006). Dari segi kimia, Ferrozine merupakan kelompok ferin yang memiliki kemampuan dalam membentuk kompleks dengan ion besi (Fe^{2+}), dimana senyawa kompleks yang terbentuk nantinya akan diganggu oleh senyawa lain yang mengkelat logam besi tersebut.



Gambar 2. 3 Struktur Kimia Ferrozine (Pubchem, 2022).

Sample dinyatakan memiliki aktivitas sebagai pengkhat ion logam apabila mampu memecah kompleks Fe^{2+} ferrozine bereaksi membentuk kompleks dengan ion besi (Fe^{2+}) yang lepas dan ditandai penurunan absorbansi kompleks Fe^{2+} ferrozine yang ditunjukkan melalui penurunan intensitas warna (Elmastaş *et al.*, 2006).

$$\% \text{ Chelating} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100$$

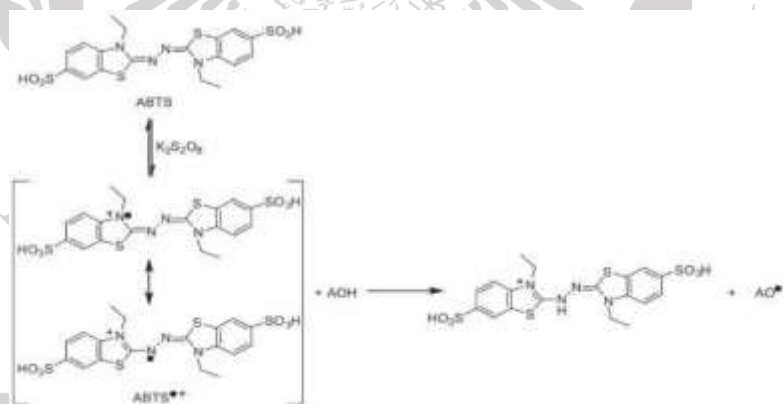
10. Metode ABTS (2,2'-Azinobis-[3-ethylbenzothiazoline6-sulfonic acid])

Teknik ABTS adalah substrat peroksidase yang membangun molekul radikal kationmetastabil ketika terjadi oksidasi dengan adanya kalium persulfat. Karena dapat digunakan pada fase udara dan lipid, uji ABTS, juga dikenal sebagai uji radikal ABTS, telah banyak digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan komponen dalam makanan dan minuman (Re *et al.*, 1999).

Pendekatan ini bekerja berdasarkan prinsip penghambatan, di mana sampel dimasukkan ke dalam sistem dan kapasitas antioksidan total ditentukan oleh ukuran. Teknik ABTS memiliki keuntungan karena dapat digunakan pada zat berwarna cerah sekalipun dengan absorbansi yang diukur di luar daerah spektrum UV-Vis. Kelemahannya adalah radikal bebas, seperti DPPH, tidak tersedia secara komersial (Oliveira et al., 2014). Pada panjang gelombang 414, 660, 734, dan 820 nm, kapasitas relatif antioksidan untuk menurunkan ABTS dapat dievaluasi menggunakan spektrofotometer (Miller et al., 1993).

Oksidator kuat (kalium permanganat atau kalium persulfat) digabungkan dengan garam ABTS untuk membentuk $ABTS^{\bullet+}$. Penekanan spektrum penyerapan gelombang panjangnya yang khas digunakan untuk menilai pengurangan $ABTS^{\bullet+}$ (biru-hijau) oleh antioksidan pendonor hidrogen; selama reaksi ini, radikal ABTS biru diubah kembali ke keadaan netral yang tidak berwarna (Boligon et al., 2014).

Kelebihan metode ABTS yaitu mampu bereaksi dengan antioksidan dengan cepat, serta mampu digunakan pada rentang pH yang lebar, lalu dapat larut air dan juga pelarut organik (Prior et al., 2005). Sedangkan kekurangannya yaitu reagen tersebut memiliki harga yang relatif mahal.



Gambar 2. 4 Reaksi ABTS dengan Antioksidan (Oliveira et al., 2014).

11. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang menggunakan sumber cahaya bersifat elektromagnetik yang mendekati ultraviolet (190 nm – 380 nm) dan tampak (380 nm – 780 nm) untuk menentukan absorbansi suatu material. Ketika molekul sederhana terkena radiasi elektromagnetik, ia menyerapnya sesuai

dengan energinya dalam spektrum UV-Vis. Energi potensial elektron pada tingkat keadaan tereksitasi akan meningkat sebagai akibat dari interaksi ini. Ketikahanya satu jenis kelompok yang memiliki transisi elektronik dalam molekul sederhana ini, akan terjadi penyerapan, yang merupakan garis spektral (Mulja dan Suhaman, 1995).

Dalam kimia analitik, spektrofotometri adalah analisis kuantitatif kuantitatif yang menentukan berapa banyak energi foton yang diserap oleh absorbansi spektrum panjang gelombang. Fotometer merupakan alat yang mengukur tingkat intensitas dari cahaya yang diserap, sedangkan spektrofotometer menghasilkan cahaya dari spektrum dengan panjang gelombang khusus. Akibatnya, apakah energi disebarkan, dipantulkan, atau dipancarkan sebagai fungsi panjang gelombang, spektrofotometer digunakan untuk mengetahui nilai energi relatif (Khopkar, 2010).

Setiap kelompok kromofor menghisap sinar UV pada suatu gelombang tertentu, yang ditentukan oleh substituen dan konjugasi ekstra ganda molekul. Spektroskopi Vis mirip dengan spektroskopi UV karena digunakan untuk mempelajari zat berwarna. Kedua metode spektroskopi dapat digunakan secara kuantitatif untuk menghitung jumlah cahaya yang sebanding dengan konsentrasi empiris zat penyerap, seperti yang diberikan oleh persamaan Lambert-Beer (Sitorus, 2010).

Prinsip spektrofotometri UV-Vis menggunakan larutan kimia dan radiasi terhadap rentang panjang suatu gelombang 200-800 nm. Elektron molekul dirangsang, menyebabkannya memasuki keadaan kuantum yang lebih tinggi dan menghisap sebagian energi yang melewatinya. Semakin panjang panjang gelombang cahaya yang diterima, semakin longgar elektron yang terperangkap dalam molekul (David, 2010).

C. Kerangka Konsep

