

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

II.1.1 Tinjauan Botani *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

Menurut (Li, 2018) *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli adalah tumbuhan berbunga yang tumbuh terutama di daerah beriklim tropis hingga daerah beriklim sedang di dunia, sementara di daerah yang lebih dingin, spesies tanaman tersebut lebih sedikit ditemukan. *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli didistribusikan di seluruh dunia, sedangkan pusat keanekaragamannya berada di daerah tropis dan subtropis.

Hasil penelitian (Folquitto *et al.*, 2019) semakin menambah informasi tentang *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli. Menurut penelitiannya, *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli tersebar luas dan melimpah di banyak tempat lembab mulai dari dataran rendah hingga subalpin, di Pulau Stewart serta di sekitar tepi sungai dan danau, di daerah basah padang rumput, hutan terbuka dan padang rumput. Hal ini, semakin menguatkan bahwa *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli dapat tumbuh di wilayah yang beriklim tropis.

Berdasarkan hasil penelitian Triastinurmiatiningsih, *et al* pada tahun 2012 diketahui bahwa *Lobelia angulata* termasuk tumbuhan penutup tanah yang ditemukan pada ketinggian 1600 m dpl meski memiliki Indeks Nilai Penting (INP) terendah yaitu sebesar 2,17%. Mengenai keberadaannya dalam suatu komunitas tumbuhan, dapat dikatakan bahwa semakin tinggi suatu tempat maka semakin sedikit tumbuhan yang tumbuh. Meskipun tanaman penutup tanah tersebar luas dan sangat tahan terhadap faktor lingkungan, namun penyebaran tanaman penutup tanah selanjutnya semakin berkurang. (Triastinurmiatiningsih *et al.*, 2012).

Lobelia angulata var. *papuana* (S.Moore) Gilli memiliki susunan herba yang tersebar atau berhadapan. Tepi herbanya bergerigi dan tidak memiliki stipula. Dasar bunganya berbentuk bulat. Pembungaan dalam kapitulum dan memiliki banyak bunga (*floret*) yang terletak di dasar bunga bersama yang dikelilingi oleh involukrum. Setiap kapitulum memiliki pseudantium atau bunga yang terlihat seperti satu bunga. Setiap bunga memiliki selaput pelindung (*palea*) dan berbulu. Sepal atau kelopak dimodifikasi menjadi pappus atau sisik seperti rambut. Herba mahkota atau corolla terdiri dari 5 kelopak bunga yang menyatu. Bunganya seperti pita dan memiliki 3-5 gigi di ujungnya. Bunga pita memiliki 3 lobus pada bibir atas dan 2 lobus pada bibir bawah (Silalahi & Wahyuningtyas, 2020).



Gambar II. 1 Morfologi *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

(Sumber: koleksi tanaman penulis, 2023)

Berdasarkan uraian di atas, penulis menyimpulkan morfologi *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli adalah memiliki batang merambat dan bercabang sekitar 12-55 cm, bervili, jarang gundul, berakar nodus; herba berbentuk bulat terpotong seperti hati miring dengan pinggir bergerigi dan lebat, tangkai herba berukuran 2-14 mm; memiliki bunga dengan kelopak berjumlah 5 atau lebih dan berbentuk segitiga, herba bergonta-ganti, berwarna ungu-merah, ungu pucat, merah muda, hijau, atau kuning-putih, benang sari bersambung di atas bagian tengah, tabung filamen gundul, kepala sari berduri dan berada di puncak; memiliki buah berbentuk berry berwarna ungu-merah, lonjong atau bulat sekitar 0,7-1,5 cm; serta memiliki biji suborbicular, sedikit terkompresi, dan retikulat.

II.1.2 Klasifikasi *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

Lobelia angulata yang di gunakan dalam penelitian dapat di kalisifikasikan sebagai berikut.

Moeliono, B, & Tuyn, P. (1960). Campanulaceae. *Flora Malesiana - Series 1, Spermatophyta*, 6(1), 107–141. (sebagai *Lobelia angulata* Forst.)

Kingdom : Plantae
Divisio : Tracheophyta
Classis : Magnoliopsida
Ordo : Asterales
Familia : Campanulaceae
Genus : *Lobelia*
Species : *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

II.1.3 Nama lain *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

Lobelia nummularia lam merupakan nama lain dari *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli. Dikutip dari (Aththorick & Berutu, 2018), *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli dikenal sebagai tembakau India, gulma asma, pokeweed, dan vomit wort yang berasal dari Amerika Utara. Menurut (Folquitto *et al.*, 2019), *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli pertama kali ditemukan di Indonesia tepatnya di kawasan Taman Nasional Gunung Gede Pangrango dengan sebutan tanaman cacabean atau cabe-cabean. Namun oleh masyarakat Suku Karo Sumatera Utara disebut sebagai sigarang-garang.

II.1.4 Kandungan Kimia *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

Lobelia angulata var. *papuana* (S.Moore) Gilli termasuk tanaman herba (*asterales*). Rerumputan atau semak-semak biasanya menyimpan karbohidrat dalam bentuk polifruktan inulin, yang menghasilkan poliasetilen (dalam saluran resin tetapi tidak dalam Lactuceae dan Senecionae), seskuiterpen pahit (terutama lakton seskuiterpen), minyak triterpenoid, dan berbagai alkaloid (Senecio). beberapa Eupatorieae), terkadang sianida (turunan dari valin atau turunan dari fenilalanin), tanpa iridoid dan tanpa tanin, umumnya bebas dari asam elegat dan *proanthocyanin*.

Menurut hasil penelitian (Silalahi & Wahyuningtyas, 2020), hanya sebagian *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli memiliki kristal kalsium oksalat. Namun, (Aththorick & Berutu, 2018) mengakumulasi bahwa *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli mengandung senyawa metabolit sekunder penting seperti alkaloid dan senyawa organik lainnya yang disimpan dalam vakuola.

II.1.5 Manfaat *Lobelia angulata* var. *papuana* (S.Moore) Gilli

Aktivitas farmakologi spesies *Lobelia angulata* menurut beberapa riset terbukti menunjukkan adanya aktivitas biologis seperti antimikroba, antiinflamasi, sitotoksik, dan efek neuroprotektif. Salah satunya menurut (Ju *et al.*, 2019) yang menyatakan bahwa *Lobelia angulata* banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional sehingga tanaman ini dianggap efektif dalam menghilangkan gangguan di saluran pernapasan atau sistem saraf pusat. Selain itu, tanaman tersebut dilaporkan sebagai obat yang berharga untuk pengobatan penyakit manusia termasuk asma bronkial, batuk rejan dan juga membantu menghentikan kebiasaan merokok.

(Aththorick & Berutu, 2018) menegaskan, bagi masyarakat Suku Karo Sumatera Utara, herba dan buah *Lobelia angulata* dikenal sebagai salah satu tanaman herba yang bermanfaat untuk mengobati atau mengurangi gejala influenza. Lain halnya dengan masyarakat Mizoram, India Timur Laut yang memanfaatkan *Lobelia angulata* sebagai tanaman obat tradisional antidiabetes (Folquitto *et al.*, 2019) dalam penelitiannya menegaskan bahwa *Lobelia angulata* dipercaya memiliki kandungan flavanoid sehingga memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik, dan antikanker.

II.2 Antioksidan

II.2.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan inhibitor dari proses oksidasi, terlebih ketika konsentrasi yang dihasilkan relatif kecil atau antioksidan didefinisikan sebagai komponen kimia yang terdiri atas monohidroksil atau polihidroksil fenol (Andarina & Djauhari, 2017). Antioksidan juga didefinisikan sebagai zat yang dapat menangkal efek berbahaya dari radikal bebas yang tercipta sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil reaksi kimia dan proses metabolisme yang berlangsung di dalam tubuh. (Nurdianti, 2021). Sejalan dengan pendapat tersebut, Handayani, E., & Daulay, A.S., pada tahun 2022 menyatakan bahwa senyawa yang dapat mencegah dan memperlambat kerusakan akibat radikal bebas melalui penghambatan mekanisme oksidatif disebut antioksidan (Ex *et al.*, 2022). Dengan kata lain, antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat melindungi sel-sel dari kerusakan ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan akibat ketidakstabilan molekul radikal bebas dalam tubuh sehingga radikal bebas dapat ternetralisir ke bentuk normal.

II.2.2 Fungsi Antioksidan

Antioksidan memiliki manfaat sebagai penambah atau penghilang satu elektron untuk menetralkan ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan proses oksidasi menjadi terhambat. Selain itu, antioksidan mampu melindungi sel dari efek merusak radikal bebas dengan menyumbangkan elektron bebas ke radikal bebas atau menerima elektron yang tidak stabil sehingga menjadi stabil dan menghentikan reaksi berantai serta mencegah kerusakan lipid, protein dan DNA (Andarina & Djauhari, 2017). Antioksidan juga bermanfaat untuk menurunkan laju inisiasi reaksi dalam reaksi berantai radikal bebas dan konsentrasi penggunaannya sangat rendah yaitu sekitar nol koma nol satu persen atau kurang (Redha, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa antioksidan efektif untuk menghentikan (menginterupsi) reaksi berantai radikal bebas. Sejalan dengan hal tersebut, fungsi antioksidan menurut

Bauman (Andarina & Djauhari, 2017) adalah menambah atau menghilangkan elektron untuk menetralkan radikal bebas, membuatnya stabil dan menghambat oksidasi. Antioksidan juga sangat membantu dalam menetralkan radikal bebas sehingga tubuh terhindar dari berbagai jenis penyakit degeneratif (Wijaya *et al.*, 2014).

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa fungsi antioksidan adalah sebagai pelindung, penangkal, atau pencegah dampak negatif oksidasi yang bereaksi di dalam tubuh atau dampak kelebihan radikal bebas dapat merusak sel-sel dalam tubuh dan mempengaruhi kinerja sel, jaringan dan akhirnya proses metabolisme dalam tubuh. Semakin tinggi jumlah radikal bebas dalam tubuh, semakin banyak sel yang rusak.

II.2.3 Syarat Antioksidan

Syarat antioksidan yang dapat digunakan dalam pengolahan makanan yaitu larut dalam lemak; tidak memberikan bau, rasa atau warna pada makanan; harus berlaku minimal satu tahun pada suhu kamar (25-30 °C); harus stabil pada suhu pemrosesan dan melindungi produk (transmitansi); harus bercampur dengan mudah; harus efektif pada konsentrasi rendah. Suatu antioksidan dapat dianggap aman jika memenuhi dua syarat yaitu mempunyai LD₅₀ tidak kurang dari 1.000 mg/ kg berat badan dan antioksidan harus tidak memberikan efek yang signifikan pada pertumbuhan hewan percobaan dalam studi jangka lama pada level 100 kali level yang akan dikonsumsi manusia (Wijaya *et al.*, 2014). Dengan demikian, suatu zat dapat dikatakan memiliki antioksidan jika memenuhi syarat diantaranya dapat larut dalam lemak atau minyak, tidak mengubah fisik zat, tetap stabil dalam pengolahan, mudah dicampurkan dengan senyawa lain, dan efektif pada konsentrasi rendah.

II.2.4 Jenis Antioksidan

Jika ditinjau dari cara kerjanya, antioksidan terbagi menjadi dua yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder (Wijaya *et al.*, 2014). Antioksidan primer dikenal sebagai antioksidan pemecah rantai, yang bekerja dengan cara memutus reaksi berantai sehingga radikal bebas menjadi kurang reaktif; sedangkan antioksidan sekunder yang dikenal sebagai antioksidan preventif bekerja dengan menonaktifkan logam, menghilangkan oksigen singlet dan menstabilkan ROS. Kemudian, jika ditinjau dari kelarutannya, maka antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan hidrofilik dan antioksidan hidrofobik. Antioksidan hidrofilik atau *water soluble* adalah antioksidan yang bereaksi dengan ROS didalam sitoplasma sel dan plasma darah, contohnya asam askorbat, *glutation* dan asam urat; sedangkan antioksidan

hidrofobik atau *lipid soluble* adalah antioksidan yang melindungi membran sel dari lipid peroksida, contohnya karoten, α -tokoferol dan ubikuinon. Selanjutnya, jika ditinjau dari sumbernya, maka antioksidan dibagi menjadi dua yakni antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis banyak dipakai karena stabilitasnya yang baik dan kemudahan ketersediaannya. Namun, banyak antioksidan alami yang dikembangkan sebagai alternatif karena kekhawatiran akan keamanan antioksidan sintetis dalam jangka panjang. .

II.2.5 Mekanisme Antioksidan

Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas dengan mengurangi konsentrasi oksigen, mencegah pembentukan oksigen singlet reaktif, mencegah inisiasi rantai pertama dengan mengambil radikal primer seperti radikal hidroksil, katalis penghubung dengan ion logam, dengan memecah produk radikal menjadi senyawa radikal bebas dan memecah rantai hidroperoksida (Farmasi & Jember, 2016).

Sejalan dengan mekanisme kerjanya, fungsi antioksidan menjadi dua. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu menyumbang atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang memiliki fungsi utama ini sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat dengan cepat menyumbangkan atom hidrogennya ke radikal bebas ($R\cdot$, $ROO\cdot$) dan mengubahnya menjadi bentuk yang stabil, sedangkan turunan radikal bebas antioksidan ($A\cdot$) memiliki keadaan lebih stabil daripada radikal bebas. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan yaitu memperlambat laju oksidasi dengan berbagai mekanisme selain memutus rantai oksidatif dengan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang lebih stabil (Farmasi & Jember, 2016). Reaksi penghambatan terhadap radikal bebas pada antioksidan primer, sebagai berikut :



Berikut ini beberapa fungsi antioksidan dalam suatu senyawa:

1. Memutus reaksi berantai yang membentuk radikal bebas, khususnya senyawa yang mampu melepaskan atom H, misalnya vitamin E.
2. Reduktor adalah senyawa yang mentransfer atom hidrogen atau oksigen.
3. Pengikat ion logam, khususnya senyawa yang mampu mengikat peroksida, seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} , misalnya flavonoid.

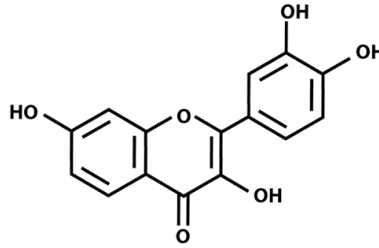
4. Antioksidan sekunder, yaitu zat yang mampu mengurai hidropersoksida menjadi bentuk yang stabil, seperti enzim superoksida dismutase, katalase dan katalase peroksidase.

Berdasarkan uraian di atas diketahui bahwa variasi dari struktur antioksidan mempengaruhi potensi antioksidan. Senyawa BHT dengan substituen t-butil pada posisi ortho dan para-nya berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan yang lebih dominan dibandingkan BHA. Senyawa fenolik alternatif bagi sebagian peneliti dimanfaatkan sebagai antioksidan alami dan dapat ditemukan diberbagai tumbuh-tumbuhan tropis sebagai turunan polifenol seperti flavonoid, flavon, flavonol, dll. Senyawa polifenol bioaktif ini terdapat pada senyawa xanthone dengan gugus isoprena.

II.2.6 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang sering digunakan untuk sumber antioksidan. Selain itu senyawa ini tergolong fenolik dan dapat ditemukan diberbagai tumbuhan. (Farmasi & Jember, 2016). Hampir semua bagian yang ada di tumbuhan terdapat senyawa ini sebagai zat warna. Dalam berbagai penelitian para peneliti sering memanfaatkan flavonoid sebagai antioksidan ditinjau dari komposisi kimia yang di kandung serta dapat menyumbang elektron hidrogen (Andarina & Djauhari, 2017).

Pembentukan flavonoid terjadi di tumbuhan asam amino aromatik fenilalanin, tirosin dan malonat. Flavonoid aglikon (flavonoid yang tidak mengandung gula) pada tanaman yang memiliki banyak struktur berbeda. dalamnya mengandung 15 karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 dimana dua cincin aromatik dihubungkan oleh unit trikarbon yang mungkin atau mungkin tidak membentuk cincin ketiga. dalam bentuknya flavonoid sering diperoleh dalam bentuk campuran daripada secara tunggal. Selain itu, flavonoid adalah kelompok senyawa yang mudah terurai pada air. Flavonoid tumbuhan dihubungkan sebagai glikosida dan aglikon. Kelompok flavonoid meliputi *anthocyanin*, *proanthocyanin*, *flavonol*, *flavon*, *glikoflavon*, *biflavonil*, *chalcones*, *auron*, *flavonone* dan *isoflavon*. Flavonoid memuat sistem aromatik terkonjugasi sedemikian rupa sehingga memperlihatkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum UV dan tampak (Haeria *et al.*, 2016).



Gambar II.2 Kerangka Flavonoid

Sumber: (Redha, 2010)

Kerangka flavonoid terdiri dari cincin aromatik A, cincin aromatik B, dan cincin perantara dalam bentuk heterosiklik yang mengandung oksigen, dan bentuk teroksidasi dari cincin ini adalah dasar pembagian flavonoid menjadi subkelompok (Redha, 2010).

Flavonoid bertindak sebagai antioksidan dengan menyumbangkan atom hidrogennya dengan kemampuannya mengkelat logam dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010). Selanjutnya, flavonoid dapat merubah atau mereduksi radikal bebas dan menjadi antiradikal bebas (Zuhra *et al.*, 2008). Kandungan flavonoid yang terkandung dalam tanaman juga berpeluang menjadi antioksidan, antibakteri, antivirus, dan lain-lain (Abdullah, 2020).

Pengonsumsian senyawa flavonoid memiliki efek kecanduan pada pembersihan radikal bebas (Zuraida *et al.*, 2017). Selain itu, Flavonoid dapat meningkatkan fungsi antioksidan endogen dengan berpartisipasi dalam tiga sistem generasi radikal bebas yang bervariasi seperti:

1. Pembersihan langsung radikal

Flavonoid mampu menunda kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas. Pemulungan langsung radikal bebas oleh flavonoid menghasilkan zat penstabil.

2. Nitrit oksida

Beberapa flavonoid yang mengandung kuersetin dapat mengurangi kerusakan setelah pengenalan iskemi melalui induksi aktivitas nitrit oksida sintase.

3. Pembuluh darah

Konsentrasi tinggi oksida nitrat yang diproduksi di makrofag dapat menyebabkan kerusakan oksidatif.

Dengan demikian, senyawa flavonoid adalah senyawa sumber antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas, karena flavonoid mampu menyumbangkan atom hidrogennya atau mampu mengkelat logam dalam bentuk glukosida.

II.2.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Berikut ini beberapa uji aktivitas antioksidan yang dapat dilakukan oleh seorang peneliti, diantaranya dengan menggunakan metode yang berbasis air atau reaksi dengan radikal bebas yaitu metode DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil), metode yang berbasis reaksi reduksi-oksidasi (*Ferric Reducing Antioxidant Power* atau FRAP), metode reaksi kelat atau melalui pembentukan kompleks *Ferrous Ion Chelating* (FIC), dan metode yang berbasis lemak misalnya dengan *Thiobarbituric acid* (TBA) (Maesaroh *et al.*, 2018). Menurut pandangan yang sama, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), metode ABTS (2,2'-Azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt), dan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Setiawan *et al.*, 2018).

Berbagai macam metode uji aktivitas antioksidan menentukan hasil uji yang bervariasi. Hal ini disebabkan pengaruh struktur kimia antioksidan, asal bebas dan sifat fisikokimia preparat sampel yang beragam. maka dari itu, penting untuk memilih metode analisis aktivitas antioksidan yang tepat dan selektif untuk jenis sampel tertentu.

Peneliti menerapkan metode DPPH, metode DPPH merupakan metode yang bergantung dengan adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal yang pada akhirnya menimbulkan perbedaan radikal bebas (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) menjadi senyawa non radikal (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (radikal bebas berkurang dengan adanya antioksidan) (Setiawan *et al.*, 2018). DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan radikal bebas ungu yang dimanfaatkan sebagai penguji kemampuan penangkapan radikal bebas dari berbagai bahan alami seperti komponen fenolik, antosianin atau ekstrak kasar. Radikal bebas DPPH didefinisikan sebagai radikal sintetik yang berada pada suhu kamar yang terlarut dan pelarut polar seperti metanol. Sifat stabil ini disebabkan karena radikal bebas ini memiliki satu elektron yang terdelokalisasi dari molekul utuhnya, sehingga molekul tersebut tidak sereaktif radikal bebas lainnya. Delokalisasi ini akan menghasilkan warna ungu tua dengan puncak serapan pada 517 nm dalam larutan etanol atau metanol (Chem, 2017).

Cara kerja dari metode radikal bebas DPPH dilakukan dengan menyumbangkan atom hidrogen ketika senyawa antioksidan direaksikan, reaksi tersebut menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Maesaroh *et al.*, 2018). Kadar perubahan warna yang dihasilkan akan menampilkan tingkat kepekatan senyawa yang diuji dalam menyumbangkan atom hidrogen. Semakin kuning warna yang dihasilkan semakin menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dari senyawa tersebut. Elektron yang tidak berpasangan pada senyawa DPPH setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan akan berpasangan sehingga senyawa DPPH tidak lagi bersifat radikal. Perubahan penyerapan ini digunakan untuk menentukan kemampuan ekstrak tanaman untuk mengais radikal bebas.

Metode DPPH digunakan sebagai alat pengukur elektron tunggal seperti transfer hidrogen serta untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas dari reaksi: $\text{DPPH}^\bullet + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^\bullet$. Metode ini tidak menampilkan secara detail komponen antioksidan tertentu, tetapi berlaku untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. Warna ungu DPPH berubah menjadi kuning ketika radikal DPPH bergabung dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan mereduksi radikal bebas DPPH menjadi (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Chem, 2017).

Metode ini digunakan untuk penyaringan awal berbagai sampel, terutama ekstrak tanaman, karena hasilnya terbukti akurat, andal, cepat, nyaman, sederhana, mudah, dan sensitif, dan hanya membutuhkan sedikit sampel tetapi cukup pengencer (Pamungkas *et al.*, 2017).

Untuk menguji aktivitas antioksidan secara kuantitatif, spektrofotometer UV-Vis digunakan. Larutan pembandingnya adalah vitamin C. Aktivitas penangkapan radikal bebas ditunjukkan oleh nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan uji yang memiliki kemampuan untuk menurunkan absorbansi DPPH sebesar 50% dibandingkan dengan larutan blanko. Nilai IC_{50} adalah uji parameter yang umum digunakan untuk menunjukkan hasil pengujian DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Diketahui:

A kontrol : Absorbansi kontrol

A sampel : Absorbansi sampel

Dari hasil pengukuran diperoleh data kemudian dibuat kurva antara konsentrasi sampel dalam satuan $\mu g/mL$ sebagai sumbu (x) dan % peredaman DPPH sebagai sumbu (y), selanjutnya dimasukkan kedalam rumus persamaan regresi linear:

$$Y = bx \pm a.$$

Y = % peredaman DPPH.

X Konsentrasi sampel dalam satuan $\mu g/mL$.

Nilai IC_{50} dihitung dari kurva regresi linear antara % inhibisi serapan dan konsentrasi. Selanjutnya nilai IC_{50} yang dihasilkan dibandingkan dengan vitamin C untuk mengetahui aktivitas antioksidan.

Tabel II.1 Kategori Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50}

Kategori	Nilai IC_{50} (ppm)
Sangat Kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	150-200
Sangat Lemah	> 200

Dengan kata lain, parameter hasil pengujian dengan metode DPPH adalah IC_{50} (*inhibition concentration*), yaitu konsentrasi larutan sampel yang menyebabkan reduksi terhadap inhibisi DPPH sebesar 50%.