

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis L*)

2.1.1. *Aquilaria malaccensis Lam*

Gaharu dapat ditemukan di Indonesia umumnya berada di Indonesia bagian timur, antara lain tersebar di Sulawesi, Maluku, Nusa Tenggara, dan Papua (Mulyaningsih & Sukenti, 2019). *Aquilaria malaccensis L* merupakan salah satu jenis penghasil gaharu yang banyak dibudidayakan di Nusa Tenggara Barat.



Gambar 2. 1 Daun Gaharu *Aquilaria malaccensis Lam*
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

2.1.2. Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Famili	: Thymelaeaceae
Genus	: <i>Aquilaria</i> Lam
Spesies	: <i>Aquilaria Malaccensis</i> Lam (ITIS, 2024).

2.1.3. Nama Daerah

Gaharu dikenal dengan beberapa nama seperti kayu karas dan garu. Gaharu juga memiliki beberapa nama daerah, seperti halim (Lampung), alim (Batak), kareh (Minang), mengkaras, calabac, karas, kekaras (Dayak), galoop (Melayu), dan seringak (Za'amah Ulfah et al., 2021).

2.1.4. Morfologi Tanaman

Tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) dicirikan dengan daun kering berwarna abu-abu kehijauan, agak bergelombang, panjang 4 - 6 cm dan lebar 3 – 4 cm dan menggulung tidak beraturan. Serbuk simplisia berwarna hijau kekuningan, tidak berbau, bentuk serbuk kasar dan berbulu. Daun gaharu segar memiliki bentuk lonjong memanjang, ujung daun meruncing, panjang 5 - 8 cm dan lebar 3 - 4 cm susunan tulang daun menyirip, tulang daun 12 - 16 pasang, berwarna hijau mengkilat, berbau khas dan rasanya pahit diikuti rasa manis. Bunga dari tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) bersifat hermaprodit dengan panjang hingga 5 mm, memiliki aroma yang harum dan warna hijau kekuningan atau putih. Buah gaharu memiliki warna hijau, bentuk bulat telur dan permukaan yang kasar dengan bulu-bulu halus, panjang 3-4 cm dan lebar 2-2,5 cm (Za'amah Ulfah et al., 2021).

2.1.5. Kandungan Kimia

Tanaman gaharu jenis (*Aquilaria malaccensis* Lam) mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tannin (Sufaati et al., 2024). Berdasarkan hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) memiliki senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari flavonoid, saponin, tannin, triterpenoid dan alkaloid (Suhardiman & Budiana, 2023). Senyawa flavonoid Memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan (Suhardiman et al, 2022). Selain bioaktivitasnya daun gaharu juga diketahui mengandung senyawa kimia yang umumnya termasuk dalam golongan metabolit sekunder (Wahyudi et al.,

2018). Hasil penelitian Suhardiman et al. (2022) menunjukkan terdapat aktivitas penghambatan enzim alfa glukosida oleh ekstrak dan fraksi daun gaharu methanol:air senyawa yang berperan adalah senyawa flavonoid. Sehingga daun gaharu mempunyai potensi untuk pengembangan obat herbal dalam pengobatan penyakit diabetes melitus (Suhardiman et al, 2022).

2.1.6. Manfaat

Pemanfaatan gaharu telah dimulai sejak dahulu oleh bangsa-bangsa Asia dan Timur Tengah dalam hal penggunaannya sebagai obat-obatan, pengharum, parfum, maupun pelengkap upacara keagamaan. Seiring perkembangan teknologi, negara-negara seperti Singapura, Cina, Korea, Jepang dan Amerika Serikat mulai mengembangkan gaharu sebagai obat untuk penghilang stress, gangguan ginjal, sakit perut, asma, hepatitis, sirosis, pembengkakan liver dan limpa, antibiotika untuk TBC, reumatik, kanker, malaria serta radang lambung. Di Indonesia, secara tradisional masyarakat Papua telah menggunakan daun, kulit dan akar gaharu sebagai obat malaria dan perawatan kulit (Mulyaningsih & Sukenti, 2019).

2.1.7. Tinjauan Farmakologi

Karena kaya akan seskuiterpena, 2-(2-feniletil) kromon, senyawa aromatik, dan efek farmakologisnya yang ampuh sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, antitumor, obat penenang, dan analgesik, gaharu umumnya digunakan untuk mengobati penyakit kardiovaskular, sistem saraf, pencernaan, dan pernapasan. Penelitian Ma menunjukkan bahwa kemampuan penangkapan radikal DPPH dan ABTS dari gaharu terinduksi dan gaharu liar hampir sama (Ma dkk., 2023). Pada konsentrasi 0,8 mg/mL, laju penangkapan radikal DPPH untuk gaharu terinduksi dan gaharu liar masing-masing adalah 91,26% dan 91,59%. Pada 0,2 mg/mL, laju penangkapan radikal ABTS untuk gaharu terinduksi dan gaharu liar masing-masing adalah 91,03% dan 94,80%.

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom dengan energi tinggi dan satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan; sifat ini menjadikannya atom yang sangat reaktif. Radikal bebas terhubung dengan atom lain yang secara alami juga tidak berpasangan dengan sangat mudah karena reaktivitasnya yang besar. Radikal bebas memiliki kecenderungan untuk menurunkan tingkat energinya dengan menyumbangkan elektron ekstra yang tidak berpasangan ke zat yang berdekatan karena sifatnya yang sangat reaktif dan tidak stabil. Misalnya, ketika radikal bebas tercipta di dalam tubuh, mereka menargetkan sel dan jaringan di sekitarnya dengan merusak DNA, protein sel, dan membran lipid (Khairunnisa, 2017).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan molekuler. Aktivitas sel terganggu oleh cedera pada sel dan jaringan, yang menyebabkan kerusakan dan bahkan kematian sel. Selain itu, jika oksigen dan lipid berulang kali direaksikan dengan radikal bebas, radikal bebas baru seperti hidroperoksida, superoksida, oksida lipid, dan radikal hidroksil akan diproduksi. Radikal ini sangat sitotoksik ketika bersentuhan dengan sel hidup. Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh radikal bebas antara lain kanker, penyakit saraf, dan penyakit kardiovaskular (Khairunnisa, 2017).

Radikal bebas memiliki sumber internal dan eksternal. Radikal bebas internal diproduksi sebagai produk sampingan dari metabolisme, terutama metabolisme aerobik. Sedangkan sumber eksternal radikal bebas meliputi hal-hal seperti alkohol, beberapa obat-obatan, pestisida, anestesi, rokok, lingkungan, radiasi UV, dan ozon (Fakhriah, 2019).

Fase pertama dalam mengembangkan radikal adalah tahap inisiasi. Karena keterbatasan energi, peristiwa pembelahan homolitik umumnya jarang terjadi. Tahap ini biasanya berkembang sebagai akibat dari beberapa faktor, termasuk suhu tinggi, sinar UV, atau katalis yang mengandung logam yang digunakan sebagai penghalang energi. Tahap propagasi reaksi berantai, juga dikenal sebagai "rantai," datang berikutnya. Setelah radikal bebas reaktif diproduksi, berfungsi sebagai katalis bagi radikal bebas lain untuk berinteraksi dengan molekul yang stabil dan terbentuk.

Akibatnya, abstraksi hidrogen atau penambahan radikal pada ikatan rangkap, yang menghasilkan banyak radikal bebas, terus berlangsung. Jika dua radikal berinteraksi dan membentuk spesies non-radikal pada tahap terminasi, reaksi radikal akan terhenti (Yuslianti, 2018).

Tubuh manusia bisa mendapatkan keuntungan dari radikal bebas dengan cara lain. Rasio radikal bebas terhadap antioksidan harus diatur agar efek menguntungkan ini terjadi, oleh karena itu tubuh tidak dapat mengandung radikal bebas dalam jumlah berlebihan. Fosforilasi oksidatif, apoptosis sel, dan kematian mikroba adalah keuntungan dari radikal bebas (Khairunnisa, 2017).

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Antioksidan akan berinteraksi dengan cara menstabilkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan karena radikal bebas yang mungkin dapat terjadi. Antioksidan alami berupa senyawa flavonoid yang merupakan kelompok senyawa polifenol yang berasal dari tanaman seperti teh, buah -buahan dan sayuran. Senyawa flavonoid dapat bekerja langsung untuk meredam radikal bebas oksigen seperti superoksida yang dihasilkan dari reaksi enzim xantin oksidase (Handayani et al., 2018).

1. Antioksidan Primer

Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Zat-zat yang termasuk dalam golongan ini adalah yang berasal dari alam dan dapat pula buatan antara lain: tokoferol, lesitin, fosfatida, sedamol, gosipol, dan asam askorbat. Antioksidan alam yang paling banyak ditemukan dalam minyak nabati adalah tokoferol yang mempunyai keaktifan vitamin E dan terdapat dalam bentuk α , β , γ , dan δ -tokoferol, tapi α -tokoferol yang menunjukkan keaktifan vitamin E yang paling tinggi. Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, flavonoid,

Vitamin E, beta karoten, katekin dan resveratrol. Antioksidan sintetik yang banyak digunakan sekarang adalah senyawa-senyawa fenol yang biasanya agak beracun. Karena itu penambahan antioksidan harus memenuhi beberapa syarat, misalnya tidak berbahaya bagi kesehatan, tidak menimbulkan warna yang tidak diinginkan, efek pada konsentrasi rendah, larut dalam lemak, mudah didapat dan ekonomis. Empat macam antioksidan yang sering digunakan pada bahan makanan adalah Butylated hydroxyanysole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT), Propiylgallate (PG), dan Nordihydroquairetic acid (NDGA).

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan sehingga dapat digolongkan sebagai senergik. Beberapa asam organik tertentu biasanya asam di- atau trikarboksilat, dapat mengikat logam-logam (sequistran). Misalnya satu molekul asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe sering dilakukan pada minyak kacang kedelai EDTA adalah sequistran logam yang sering digunakan dalam minyak salad. Dalam penggunaan antioksidan, harus dipikirkan bahwa terdapat keadaan atau zat tertentu yang dapat mempermudah terjadinya reaksi oksidasi, seperti panas, cahaya dan logam. Selain itu, terdapat pula zat antioksidan yang kehilangan daya antioksidannya setelah berikatan dengan oksigen sehingga tidak berfaedah bila digunakan, terutama di dalam pemrosesan makanan dalam sistem terbuka (Arisman, 2009).

2.4 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Kemenkes RI, 2017).

Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh dan bagian tanaman. Simplisia hewani yaitu simplisia yang dapat berupa hewan utuh, bagian dari

hewan atau zat berguna yang dihasilkan hewan, tetapi bukan berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah secara sederhana belum berupa zat kimia murni (Rina Wahyuni, Guswandi, 2014).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan pelarut yang tepat. Bak itu pelarut organik atau pelarut anorganik (Mukhtarini, 2014). Metode pemisahan ekstraksi menggunakan prinsip kelarutan like dissolve like dimana suatu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Syamsul et al., 2020). Pada proses ekstraksi dapat digunakan sampel dalam keadaan segar atau yang telah dikeringkan terlebih dahulu tergantung pada sifat tumbuhan dan senyawa yang akan diisolasi. Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana dengan cara pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (RI, 2000).

Beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin. Ekstraksi cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasai, sedangkan ekstraksi cara panas yaitu soxhlet, refluks, infus, dekok dan digesti (RI, 2000).

2.5.1. Maserasi

Maserasi adalah teknik ekstraksi yang melibatkan perendaman simplisia dalam pelarut pada suhu kamar dalam wadah tertutup rapat. Proses ini didasarkan pada kemampuan pelarut untuk menembus dinding sel dan menyebabkan perpindahan senyawa fitokimia dari matriks bahan alam ke larutan penyarinya. Teknik ini umumnya digunakan untuk mengekstraksi senyawa volatil dan termolabil seperti pigmen, antosianin dan senyawa aromatik (Arrofqi et al., 2024).

2.5.2. Perkolasi

Perkolasi adalah teknik ekstraksi yang dilakukan dengan melewatkkan pelarut melalui simplisia secara terus-menerus pada suhu kamar. Proses ini melibatkan penggunaan perkulator, yaitu alat berbentuk kerucut yang memungkinkan pelarut segar untuk mengalir melalui simplisia hingga mencapai titik jenuh. Teknik ini cocok untuk ekstraksi senyawa fitokimia termolabil seperti terpenoid, flavonoid, dan tannin (Arrofiqi et al., 2024).

2.5.3. Soxhlet

Metode soxhlet, yang dikembangkan oleh Franz von Soxhlet pada tahun 1879 adalah teknik ekstraksi kontinu di mana pelarut berulang kali disirkulasikan melalui simplisia. Teknik ini digunakan untuk mengekstraksi senyawa fitokimia yang stabil secara termal seperti alkaloid dan piperin. Perbedaan utama antara soxhlet dan refluks adalah adanya komponen ekstraktor yang disebut sifon pada soxhlet (Arrofiqi et al., 2024).

2.5.4. Reflux

Refluks adalah metode ekstraksi yang melibatkan distilasi siklik dimana pelarut diuapkan, kemudian dikondensasikan kembali dan dialirkan kembali ke dalam labu ekstraksi. Teknik ini sangat sesuai untuk ekstraksi senyawa fitokimia yang stabil terhadap panas seperti umbi-umbian dan kacang-kacangan. Metode ini mirip dengan soxhlet, namun pada refluks, simplisia dicampur langsung dengan pelarut dalam labu ekstraksi (Arrofiqi et al., 2024).

2.5.5. Infusa

Infusa adalah metode ekstraksi yang melibatkan perendaman simplisia dalam air panas dalam waktu singkat. Teknik ini sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa bioaktif yang larut dalam air dari bahan aromatik seperti bunga, daun dan

batang. Namun, metode ini tidak cocok untuk senyawa hidrofobik seperti alkaloid, resin, dan lipid (Arrofqi et al., 2024).

2.5.6. Dekok

Dekokta adalah teknik ekstraksi di mana simplisia direbus dalam air hingga volumenya berkurang. Teknik ini digunakan untuk mengekstraksi bahan keras seperti biji, akar, dan kulit batang yang tidak mengandung senyawa aromatik mudah menguap. Dekokta mirip dengan infusa, namun penyaringannya dilakukan dalam kondisi panas dan wadah terbuka (Arrofqi et al., 2024).

2.5.7. Digesti

Digesti adalah metode maserasi yang dilakukan pada suhu 40°C dengan pengadukan konstan. Teknik ini cocok untuk mengekstraksi senyawa aktif yang stabil terhadap pemanasan. Proses ini mirip dengan menyeduh teh dan efektif untuk mengekstraksi senyawa yang memerlukan pemanasan ringan (Arrofqi et al., 2024).

2.6 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses penarikan senyawa menggunakan dua atau lebih pelarut yang berbeda sifat kepolarannya dan fraksinasi dimulai dari pelarut nonpolar, Semi polar dan polar sehingga senyawa tertentu terpisahkan menurut kesesuaian sifat dengan cairan pelarut (*prinsip solve dissolve like*) (Suhardiman et al, 2022). Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa teknik, diantaranya adalah dengan liquid-liquid extraction (ekstraksi cairan-cairan) atau menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam dan fase gerak tertentu.

Fraksinasi dengan ekstrak cair-cair adalah pemisahan sekelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat tercampur antara keduanya (*immiscible*). Pada umumnya fraksinasi

dengan metode ini dilakukan dengan menggunakan labu pemisah (*separating funnel*). Fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair dilakukan dengan pengocokan. Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran (Satria et al., 2022).

2.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan suatu proses pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan pemisahan yang ditentukan oleh fasa diam dan fasa gerak. Komponen kimia bergerak ke atas mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen kimia tersebut tidak sama, sehingga komponen kimia dapat berpindah jarak yang berbeda-beda tergantung tingkat kepolaran suatu senyawa yang di uji (Kusnadi & Devi, 2017). Kromatografi Lapis Tipis menggunakan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus. Bercak pada plat KLT dimonitor di bawah lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Penentuan golongan senyawa pada uji KLT dilakukan dengan penyemprotan plat KLT dengan beberapa pereaksi (Alen & , Fitria Lavita Agresa, 2017).

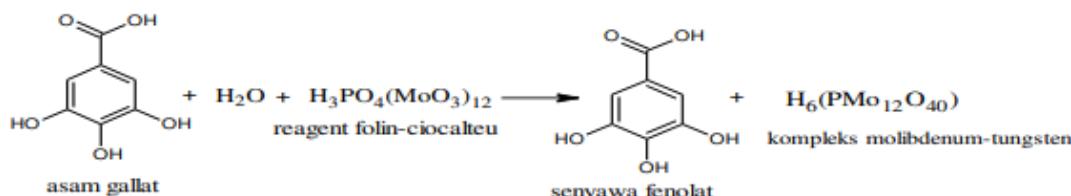
Metode KLT bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa yang diinginkan (Suhardiman et al., 2021). Penampak bercak yang digunakan untuk mendeteksi senyawa aktif secara universal yaitu H₂SO₄ 10% yang dapat memberikan informasi seluruh komponen senyawa dalam ekstrak dan fraksi. Penampak bercak FeCl₃ 10% untuk senyawa fenolik, penampak bercak AlCl₃ 5% dan sitoborat untuk senyawa flavonoid (Suhardiman & Budiana, 2023).

2.8 Fenolik

Fenolik adalah senyawa yang memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon dari cincin aromatik tersebut. Gugus hidroksil dalam fenolik berkontribusi secara langsung terhadap aktivitas antioksidan

dan memainkan peranan penting dalam penangkapan radikal bebas karena gugus hidroksil dari senyawa fenolik dapat mendonorkan atom hidrogen sehingga dapat menstabilkan senyawa radikal bebas (Adawiah et al., 2015).

Total fenolik ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip dasar metode Folin Ciocalteu adalah reaksi oksidasi dan reduksi kolorimetrik untuk mengukur semua senyawa fenolik dalam sampel uji. Pereaksi Folin Ciocalteu merupakan larutan kompleks ion polimerik yang dibuat dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat yang terdiri dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium sulfat, dan bromin. Senyawa fenolik bereaksi dengan oksidator fosfomolibdat dibawah kondisi alkalis menghasilkan senyawa fenolat dan kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru (Adawiah et al., 2015).



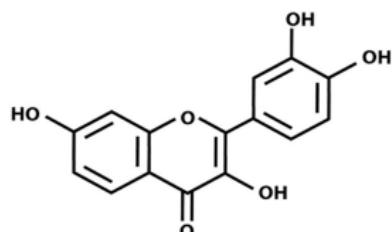
Gambar 2. 2 Reaksi pembentukan kompleks molibdenum-tungsten blue
(Adawiah et al., 2015)

Senyawa fenolik adalah metabolit sekunder bioaktif yang terdistribusi secara luas di tanaman terutama disintesis oleh asam sikamat, pentosa fosfat dan jalur fenilpropanoid. Secara struktural, senyawa fenolik mencakup sejumlah senyawa yang memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil dan dapat bervariasi dari molekul sederhana hingga polimer kompleks (Diniyah & Lee, 2020).

Senyawa fenolik dibagi menjadi sub kelompok asam fenolat, flavonoid, tanin, dan stilben berdasarkan jumlah gugus fenolik hidroksil yang melekat dan elemen structural yang menghubungkan cincin benzene. Senyawa fenolik ini mempengaruhi sifat sensoris makanan dan utamanya tanin berkontribusi pada astringency dalam makanan (Diniyah & Lee, 2020).

2.9 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemui di dalam tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆ dari 15C akan membentuk konfigurasi yang menghasilkan tiga macam struktur dasar yaitu struktur 1,3-diarilpropana sebagai flavonoid, struktur 1,2-diarilpropana sebagai isoflavonoid dan struktur 1,1-diarilpropana sebagai neoflavonoid. Flavonoid adalah senyawa polar yang memiliki gugus hidroksil atau gula yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, etil asetat, dimetilsulfoksida, dimetilformamida dan air. Flavonoid memiliki berbagai macam efek biologis seperti aktivitas imunomodulasi, melenturkan pembuluh darah dan antioksidan. Flavonoid senyawa predaksi yang baik untuk menghambat reaksi aksidasi, baik secara enzim atau nonenzim. Flavonoid juga sebagai penampung yang baik terhadap radikal bebas dan superokksida sehingga melindungi lemak membrane terhadap reaksi yang merusak (Satria et al., 2022).



Gambar 2. 3 Struktur dasar flavonoid
(Satria et al., 2022)

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid menunjukkan pita serapan kuat pada UV-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Absorbansinya sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang

linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam tanaman juga semakin tinggi (Satria et al., 2022).

2.10 Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri uv-vis adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-400 nm) dan sinar tampak (400-800 nm) oleh suatu senyawa. Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang menggunakan sinar ultraviolet dan cahaya tampak sebagai daerah serapan untuk mendeteksi senyawa. Metode ini melibatkan melewatkannya seberkas radiasi melalui sampel dan mengukur intensitas radiasi yang ditransmisikan atau diserap. Hasil analisis dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu zat dalam suatu sampel, analisis struktur senyawa kimia, dan mendeteksi pengotor dalam suatu sampel. Metode ini sangat spesifik untuk setiap zat kimia, sehingga sangat spesifik. Alat yang digunakan untuk spektrofotometri disebut spektrofotometer, yang terdiri dari sumber cahaya, monokromator, tempat sampel, dan detektor. Secara keseluruhan, spektrofotometri UV-Vis adalah metode serbaguna dan banyak digunakan dalam kimia analitik karena sensitivitas, spesifisitas, dan akurasinya yang tinggi. Metode tersebut digunakan dalam berbagai aplikasi, antara lain penentuan konsentrasi suatu zat dalam suatu sampel, analisis struktur senyawa kimia, dan pendekripsi pengotor dalam suatu sampel. Metode ini sangat spesifik untuk setiap zat kimia, sehingga sangat spesifik. Alat yang digunakan untuk spektrofotometri disebut spektrofotometer, yang terdiri dari sumber cahaya, monokromator, tempat sampel, dan detector (Abriyani et al., 2024).

Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digunakan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi. Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor dioda foto, berfungsi

menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

- 1) Harus melarutkan sampel dengan sempurna.
- 2) Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
- 3) Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisi
- 4) Kemurniannya harus tinggi (Asiva Noor Rachmayani, 2015).

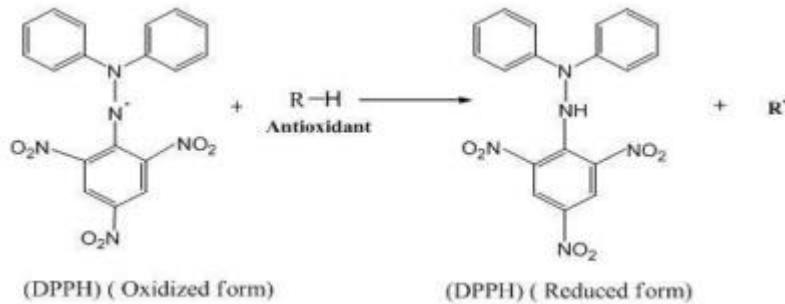
2.11 Metode Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya metode DPPH, dan CUPRAC

2.11.1. DPPH

Uji DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan metode yang banyak digunakan untuk mengevaluasi kapasitas antioksidan suatu zat. Cara kerjanya adalah dengan mengukur kemampuan sampel untuk menyumbangkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal DPPH, radikal bebas stabil dengan warna ungu yang khas. Saat antioksidan hadir, akan mereduksi DPPH, menyebabkan larutan berubah dari ungu menjadi kuning, yang kemudian dapat diukur secara Spektrofotometri Elisa. Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki

kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam (Alen & , Fitria Lavita Agresa, 2017).



Gambar 2. 4 Reaksi DPPH dengan Antioksidan
(Alen & , Fitria Lavita Agresa, 2017)

Kategori aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan tabel 1

Nilai IC ₅₀	Kategori
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 ppm – 100 ppm	Kuat
100 ppm – 150 ppm	Sedang
150 ppm – 200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat Lemah

Tabel 2.1 Penggolongan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC₅₀
(Syafrinal & Ramadhani, 2019)

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Rahmawati et al., 2016) :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

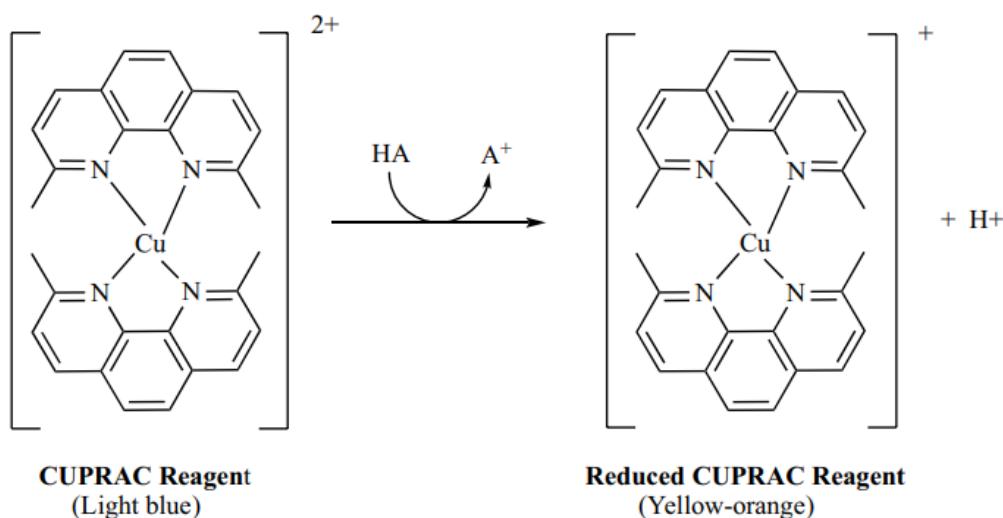
Keterangan :

Absorban blanko : Serapan radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang maksimal

Absorban sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang maksimal.

2.11.2. CUPRAC

Pada pengujian CUPRAC (Cupric ion reducing antioxidant capacity), kompleks bisneokuproin tembaga(II) akan mengoksidasi senyawa antioksidan dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks bisneokuproin tembaga(I). Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode CUPRAC dimana metode ini memiliki prinsip yaitu senyawa kompleks bisneokuproin tembaga(II) akan mengoksidasi senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi sehingga membentuk kompleks bis-neokuproin tembaga(I) (Kurnia et al., 2022).



Gambar 2. 5 Reaksi CUPRAC dengan senyawa antioksidan
 (Gulcin, 2020)

Reaksi tersebut ditandai dengan warna kompleks larutan dari biru toska menjadi kuning Metode CUPRAC dipilih sebagai uji kuantitatif karena mempunyai keunggulan yaitu lebih stabil, sederhana, serta sensitif untuk jenis senyawa antioksidan golongan fenolat dalam ekstrak maupun fraksi. Aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC menunjukkan kemampuan sampel dalam mereduksi logam Cu^{2+} menjadi Cu^+ hasil pengukuran dapat menunjukkan nilai perbandingan jumlah total tembaga yang direduksi oleh melalui transfer elektron. Antioksidan akan

mengalami oksidasi sedangkan tembaga akan direduksi Pengujian dilakukan terhadap sampel,fraksi dan pembanding vitamin C. Vitamin C dan sampel dibuat dalam beberapa seri konsentrasi yang masing-masing ditambahkan dengan CUPRAC lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, dilakukan pengukuran serapan dengan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 450 nm. Data serapan yang diperoleh dari sampel, fraksi dan standar kemudian dilakukan perhitungan EC_{50} (Kurnia et al., 2022).