

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak (*Annona muricata* Linn)



Gambar 1. Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Sumber: (Kusuma, 2021)

1. Definisi dan klasifikasi tanaman sirsak

Sirsak (*Annona muricata* Linn) adalah tanaman yang masih berkerabat dekat dengan srikaya (*Annona squamosa* Linn). Tanaman ini berasal dari kawasan tropis Amerika, khususnya sekitar Peru, Meksiko, dan Argentina. Di Indonesia, tanaman sirsak tumbuh subur dari dataran rendah hingga ketinggian 1.000 meter di atas permukaan laut. Kata sirsak berasal dari bahasa Belanda, yaitu *zuurzak*. Kata *zuur* berarti asam, dan *zak* berarti kantong, sehingga secara harfiah diartikan sebagai kantong yang rasanya asam. Selain itu, sirsak juga memiliki sebutan yang berbeda di setiap negara maupun daerahnya. Di Indonesia, tanaman ini disebut sirsak, nangka belanda atau nangka sabrang (Hidayat, 2023).

Di Indonesia terdapat dua jenis sirsak yang memiliki rasa yang berbeda. Jenis pertama memiliki rasa antara manis dan asam serta memiliki banyak biji. Jenis ini paling umum dijumpai. Jenis kedua adalah sirsak yang memiliki rasa manis, lengket di lidah dan bijinya sedikit, jenis ini dikenal dengan nama sirsak ratu karena banyak ditemukan di daerah Pelabuhan Ratu dan baru dikembangkan dalam jumlah kecil di daerah Sukabumi dan sekitarnya (Hidayat, 2023). Tanaman sirsak sebenarnya dapat tumbuh baik di berbagai daerah, namun pertumbuhannya akan optimal jika ditanam di daerah dengan ketersediaan air yang cukup. Namun, tanaman sirsak belum dibudidayakan secara luas, dan umumnya hanya ditanam di kebun pribadi atau pekarangan rumah (Muktiani, 2019).

Kedudukan tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn) dalam sistematika (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut (Wahab *et al.*, 2018):

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Magnoliales*
Famili : *Annonaceae*
Genus : *Annona*
Species : *Annona muricata* L

2. Morfologi daun sirsak

Daun sirsak berbentuk bulat telur agak tebal, bagian atasnya halus dengan warna hijau tua yang cenderung mengkilap, sedangkan bagian bawah daun berwarna hijau lebih muda dengan permukaan yang sedikit kasar dibandingkan bagian atas, tetapi tampak bersih dan tidak berambut. Ukuran panjang daun

berkisar antara 8 sampai 16 cm, sementara lebarnya antara 3 sampai 7 cm. Ujung daun berbentuk runcing pendek atau tumpul yang menambah karakter khas daun ini. Tangkai daun relatif pendek, dengan panjang 3 sampai 7 mm, namun cukup kuat untuk menopang batang daun. Tepi daun rata tanpa bergerigi atau berlekuk yang memberikan kesan daun yang rapi dan simetris saat dilihat secara keseluruhan. Permukaan daun agak dan tebal ketika diraba, yang bisa menjadi adaptasi tanaman untuk mengurangi kehilangan air. Pola tulang daun mengikuti sistem tulang menyirip, di mana tulang utama menonjol dari pangkal ke ujung daun, sementara tulang-tulang kecil bercabang keluar dari tulang utama menyebar seperti jala, memberikan dukungan mekanik serta jalur distribusi nutrisi dan air yang efisien ke seluruh bagian daun (Hidayat, 2023).

3. Kandungan senyawa bioaktif daun sirsak

Kemampuan tanaman untuk berkembang dan bertahan di lingkungan alami didukung oleh keberadaan senyawa metabolit primer (karbohidrat, protein, dan lemak) dan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid atau terpenoid, saponin, dan tanin memiliki aktivitas bioaktif yang berperan dalam mekanisme pertahanan tanaman terhadap gangguan dari luar, termasuk serangan hama maupun penyakit (Agustina, Ruslan dan Wiraningtyas, 2016). Daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dikenal sebagai tanaman obat yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder. Daun sirsak telah dimanfaatkan sebagai fisioterapi untuk mengatasi berbagai jenis penyakit, termasuk sebagai agen antiinflamasi. Selain itu, berpotensi sebagai antibakteri, antidiabetes, dan antikanker. Khasiat kesehatan yang dimiliki daun sirsak sebagian besar berasal dari kandungan senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid, dan saponin.

Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang melimpah menjadikan daun sirsak memiliki manfaat sebagai antioksidan (Asfahani, Halimatussakdiah dan Amna, 2023). Penelitian oleh Sumiati, Effendi dan Puspitasari (2016) juga menunjukkan bahwa uji fitokimia ekstrak daun sirsak dengan tiga jenis pelarut yang berbeda, yaitu etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana semuanya positif mengandung flavonoid, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga.

B. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan dalam proses pemisahan komponen tertentu dari suatu campuran dengan memanfaatkan pelarut sebagai agen pemisah. Ekstraksi adalah teknik pemisahan kimia yang bertujuan untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa dari suatu sampel melalui penggunaan pelarut yang sesuai. Secara umum, efektivitas ekstraksi meningkat seiring dengan meluasnya luas permukaan simplisia yang berinteraksi dengan pelarut. Dengan demikian, kualitas simplisia akan meningkat seiring dengan tingkat kehalusan serbuknya, dan semakin efektif ekstraksi karena luas permukaan yang lebih besar. Sebelum ekstraksi, simplisia yang sudah kering sebaiknya disimpan dalam wadah yang rapat atau kedap udara untuk menghindari potensi kerusakan akibat seragam hama atau kutu (Hujjatusnaini dkk., 2021).

Proses ekstraksi secara mendasar adalah proses perpindahan massa dari komponen padat dalam simplisia ke pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel, kemudian masuk ke dalam rongga sel tumbuhan tempat senyawa aktif berada. Senyawa aktif tersebut akan larut dalam pelarut organik di luar sel, selanjutnya menyebar ke dalam pelarut. Proses ini

berlangsung sampai tercapai keseimbangan konsentrasi senyawa aktif antara bagian dalam sel dan bagian luar sel (Marjoni, 2022).

Menurut Marjoni (2024) proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya:

1. Jumlah bahan simplisia yang akan diekstrak

Jumlah simplisia yang akan diekstrak memiliki dampak besar pada jumlah pelarut yang diperlukan, semakin banyak simplisia yang digunakan, semakin banyak pelarut yang dibutuhkan agar seluruh bahan dapat terendam. Ketidakseimbangan antara jumlah simplisia dan pelarut dapat menyebabkan penarikan senyawa tidak maksimal karena pelarut menjadi jenuh.

2. Derajat kehalusan simplisia

Semakin halus suatu simplisia, semakin luas permukaan kontakannya dengan pelarut, yang meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Simplisia yang dihaluskan hingga berukuran kecil memiliki luas permukaan kontak yang lebih besar sehingga pelarut dapat menembus jaringan lebih mudah dan mempercepat proses pelarutan komponen bioaktif. Namun, penghalusan berlebihan juga perlu dihindari karena dapat menyebabkan bubuk terlalu halus dan menyulitkan proses penyaringan (Hujjatusnaini dkk., 2021).

3. Jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi

Pelarut pada umumnya adalah zat yang berada pada larutan dalam jumlah yang besar, sedangkan zat lainnya dianggap sebagai zat terlarut. Dalam proses ekstraksi, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus merupakan pelarut terbaik untuk menarik zat dari simplisia, sehingga zat aktif bisa dipisahkan dari simplisia bersama dengan senyawa lain yang ada di dalamnya (Marjoni, 2024). Semakin

banyak senyawa yang berhasil terekstraksi, maka semakin kuat juga potensi efek farmakologis yang dapat dihasilkan. Pemilihan pelarut didasarkan pada prinsip *like dissolves like*, yaitu pelarut akan melarutkan senyawa yang memiliki sifat kelarutan serupa. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar. (Nursamsiar dkk., 2023).

Menurut Hujjatusnaini dkk (2021) beberapa macam pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu:

a. Metanol

Adanya gugus hidroksil (-OH) metanol memiliki karakteristik polar, dan juga bersifat nonpolar karena memiliki gugus metil (-CH₃). Meskipun memiliki dua sifat ini, metanol merupakan senyawa bersifat polar.

b. N-heksana

Heksana adalah senyawa yang termasuk dalam hidrokarbon alkana, sebagai pelarut nonpolar, n-heksana dapat mengikat gugus nonpolar (OH) yang terdapat pada zat warna flavonoid dan tanin. Secara umum, n-heksana adalah cairan tidak berwarna yang tidak larut dalam air.

c. Etil asetat

Sebagai pelarut semi polar, etil asetat memiliki sifat beracun rendah, mudah menguap, dan tidak higroskopis sehingga digunakan dalam ekstraksi, meskipun kurang efektif melarutkan senyawa yang sangat polar maupun nonpolar.

d. Etanol 70%

Pelarut yang umum untuk ekstraksi bahan alami adalah etanol 70% karena memiliki keseimbangan sifat polar dan semipolar yang memungkinkan penarikan senyawa bioaktif secara optimal. Kehadiran air dalam etanol 70% meningkatkan

pembengkakan dinding sel sehingga proses difusi pelarut ke jaringan simplisia menjadi lebih efektif. Kondisi ini meningkatkan kemampuan etanol 70% mengekstrak senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, dan senyawa polar lainnya (Nurcahyani, Raharji dan Apriliawan, 2025).

e. Akuades

Akuades merupakan air hasil penyulingan yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni dan umum digunakan dalam laboratorium sebagai pelarut utama dalam praktikum. Akuades tidak berwarna atau jernih, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa. Keunggulan akuades terletak pada kemampuannya melarutkan berbagai senyawa organik netral yang memiliki gugus fungsional polar, seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton dengan cepat, serta pelarut yang mudah ditemukan dan ekonomis (Khotimah, Anggraeni dan Setianingsih, 2017).

4. Waktu ekstraksi

Waktu ekstraksi menjadi salah satu faktor yang memengaruhi ekstraksi, karena waktu yang terlalu singkat maupun terlalu lama berdampak pada karakteristik kimia dan fisik bahan yang diekstraksi. Singkatnya waktu ekstraksi dapat mengakibatkan senyawa belum terekstraksi maksimal. Sebaliknya, terlalu banyak waktu dihabiskan untuk ekstraksi dapat meningkatkan jumlah senyawa yang terlarut, sehingga mengakibatkan proses pelarutan senyawa fenolik berlanjut dan berakhir hingga pelarut jenuh. Namun, memperpanjang periode ekstraksi tidak lagi meningkatkan jumlah senyawa fenolik yang diekstraksi setelah durasi ideal tercapai (Kristanti, Widarta dan Permana, 2019).

5. Metode ekstraksi

Berbagai metode ekstraksi dapat digunakan dalam pemisahan senyawa aktif, di mana masing-masing metode memiliki karakteristik dan efektivitas yang berbeda. Penentuan metode yang paling sesuai harus mempertimbangkan sifat fitokimia senyawa target, jenis pelarut yang digunakan, serta ketersediaan peralatan. Selain itu, molekul senyawa dan kondisi seperti suhu dan tekanan juga harus diperhitungkan dalam proses ekstraksi. Maserasi adalah metode ekstraksi simplisia dengan perendaman dalam pelarut tertentu selama jangka waktu yang telah ditentukan, dan dapat digunakan untuk bahan atau simplisia yang tidak tahan panas (Wahyuni, Yusuf dan Tutik, 2022). Proses ini dilakukan pada suhu ruang, yaitu 20-30°C, dengan tujuan meminimalkan penguapan pelarut yang disebabkan oleh suhu, serta diaduk selama 15 menit untuk memastikan terjadi pencampuran yang merata antara bahan dan pelarut. Pelarut kemudian menembus dinding sel dan memasuki rongga sel yang berisi senyawa bioaktif. Senyawa ini kemudian larut akibat adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel, sehingga larutan yang lebih pekat terdorong keluar. Proses ini diulang hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Kinetik adalah cara ekstraksi, seperti maserasi yang dilakukan dengan pengadukan, sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu 40-60°C (Hujjatusnaini dkk., 2021). Kelemahan metode maserasi adalah membutuhkan waktu lama, menggunakan banyak pelarut, dan memiliki peluang tinggi kehilangan senyawa tertentu. Namun proses maserasi dapat mencegah kerusakan senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, Nonci dan Munawarah, 2015).

6. Kondisi proses ekstraksi

Kondisi proses ekstraksi dalam maserasi yaitu, suhu, rasio pelarut terhadap bahan, pengadukan, serta ukuran wadah dan kondisi lingkungan. Meskipun maserasi umumnya dilakukan pada suhu ruang, sedikit peningkatan suhu dapat mempercepat kelarutan dan difusi senyawa aktif selama tidak merusak komponennya (Susanti dan Malis, 2025). Rasio pelarut dan simplisia yang tepat memastikan ketersediaan pelarut yang cukup untuk melarutkan semua komponen aktif, sekaligus mempertahankan gradien konsentrasi untuk difusi yang optimal. Pengadukan berkala membantu mendistribusikan pelarut secara merata dan mencegah penumpukan pelarut jenuh di sekitar partikel simplisia, sehingga meningkatkan laju ekstraksi (Hakim dkk., 2024). Selain itu, ukuran wadah dan kondisi lingkungan yang stabil, terutama wadah yang tertutup rapat, penting untuk mencegah penguapan dan kontaminasi pelarut selama proses ekstraksi.

7. Kadar air simplisia

Kadar air pada simplisia merupakan faktor krusial yang dapat memengaruhi kualitas bahan serta hasil akhir proses ekstraksi. Apabila kandungan airnya terlalu tinggi, simplisia menjadi rentan terkontaminasi mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, karena kelembapan yang berlebih mendukung pertumbuhan mikroba tersebut. Hal ini dapat menurunkan mutu baik simplisia maupun ekstrak yang dihasilkan. Selain itu, kadar air yang tinggi dapat menghambat proses penarikan senyawa aktif ke dalam pelarut ekstraksi. Oleh karena itu, tahap pengeringan menjadi penting untuk menekan kadar air hingga tingkat yang optimal (Wijaya dan Noviana, 2022). Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia, kadar air simplisia

yang dinyatakan sebagai susut pengeringan umumnya tidak lebih dari 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

8. Lokasi tumbuh

Lokasi tumbuh, khususnya ketinggian tempat, memengaruhi hasil ekstraksi karena menentukan jumlah flavonoid yang terbentuk dalam jaringan tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan daun Mahoni (*Swietenia mahagoni L.*) semakin meningkat seiring bertambahnya ketinggian tempat, yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti intensitas cahaya dan suhu. Peningkatan kadar flavonoid tersebut menyebabkan ekstrak dari tanaman yang tumbuh di ketinggian lebih tinggi memiliki kualitas dan aktivitas antioksidan yang lebih baik meskipun metode dan pelarut ekstraksi sama (Aulianshah, Rasidah dan Handayani, 2024).

9. Waktu pemetikan

Waktu pemetikan memengaruhi kualitas hasil ekstraksi, terutama karena kandungan zat aktif seperti flavonoid dan senyawa fenolik dalam tanaman dapat berubah sepanjang hari, seiring dengan ritme metabolisme alami dan pengaruh kondisi lingkungan. Pada pagi hari, suhu udara yang lebih sejuk dan intensitas cahaya matahari yang masih rendah membantu menjaga kestabilan flavonoid sehingga risiko kerusakan akibat oksidasi menjadi lebih kecil. Sebaliknya, pada siang hari peningkatan suhu dan paparan cahaya yang lebih tinggi dapat mempercepat proses oksidasi dan metabolisme senyawa aktif, yang berpotensi menurunkan kandungan flavonoid dalam daun. Akibatnya, ekstrak yang dihasilkan dari daun yang dipetik siang hari dapat memiliki kadar flavonoid, jumlah rendemen, serta potensi biologis yang berbeda dibandingkan dengan daun yang

dipetik pada pagi hari. Hal ini didukung oleh penelitian pada daun kelor (*Moringa oleifera*), menunjukkan bahwa daun yang dipetik di pagi hari mengandung flavonoid total dan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan daun yang dipetik pada siang atau sore hari, sehingga menunjukkan bahwa waktu pemetikan merupakan faktor penting yang menentukan kualitas bahan baku dan efektivitas ekstraksi. Dengan demikian, pemilihan waktu panen yang tepat menjadi langkah krusial untuk memperoleh bahan baku terbaik dan meningkatkan efektivitas proses ekstraksi (Aulianshah, Rasidah dan Handayani, 2024).

10. Pucuk daun

Daun sirsak yang digunakan sebagai sampel diambil mulai dari daun ke-3 sampai daun ke-5 yang masih segar. Alasan pengambilan daun urutan ke-3 sampai daun ke-5 karena daun muda belum berkembang penuh dalam arti masih aktif berfotosintesis, sedangkan daun dewasa merupakan daun yang telah berkembang penuh dan senyawa aktif di dalamnya lebih banyak dibandingkan daun muda (Diningsih dkk., 2023).

11. Kondisi ekstrak

Menurut Fitriana (2023) ekstrak dapat dibagi menjadi 4 bagian yaitu:

- a. Ekstrak cair merupakan sediaan cair dari simplisia tanaman yang menggunakan etanol sebagai pelarut atau sebagai pelindung.
- b. Ekstrak encer merupakan suatu sediaan yang memiliki konsentrasi seperti madu dan dapat dituangkan.
- c. Ekstrak kental merupakan sediaan yang dapat dilihat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang, kadar air dalam ekstrak ini mencapai hingga 30%.

- d. Ekstrak kering merupakan sediaan ekstrak yang dihasilkan melalui proses pengeringan ekstrak pekat di dalam oven dengan suhu rendah.

Kondisi ekstrak memengaruhi hasil ekstraksi karena mencerminkan jumlah pelarut yang tersisa, kadar air, dan tingkat konsentrasi senyawa aktif dalam ekstrak. Ekstrak cair dan ekstrak encer masih mengandung pelarut dalam jumlah besar sehingga senyawa aktif berada dalam kondisi lebih encer dan konsentrasinya relatif rendah. Ekstrak kental merupakan hasil penguapan sebagian pelarut sehingga senyawa aktif menjadi lebih terkonsentrasi meskipun masih mengandung kadar air tertentu. Sementara itu, ekstrak kering diperoleh melalui proses pengeringan ekstrak pekat sehingga hampir tidak mengandung pelarut dan memiliki konsentrasi senyawa aktif paling tinggi. Perbedaan kadar pelarut dan air pada masing-masing kondisi ekstrak tersebut menyebabkan variasi kadar senyawa aktif, rendemen, serta stabilitas ekstrak, sehingga kondisi ekstrak (cair, encer, kental, dan kering) menjadi salah satu faktor yang memengaruhi hasil ekstraksi (Fitriana, 2023).

C. Senyawa Flavonoid Total

Flavonoid adalah metabolit sekunder yang tersebar dalam tanaman, diketahui berperan terhadap aktivitas antioksidan. Flavonoid terdapat pada tanaman yang berperan dalam menghasilkan pigmen berwarna kuning, merah, orange, biru, dan ungu dari daun, bunga, serta buah. Flavonoid tergolong dalam kelompok polifenol yang dapat larut dalam air (Arifin dan Ibrahim, 2018). Flavonoid adalah senyawa dengan struktur yang terdiri dua cincin aromatik dan mengandung gugus hidroksil fenolik yang dihubungkan melalui tiga atom karbon pusat. Gugus -OH ini yang nantinya akan didonorkan untuk berpasangan dengan elektron pada radikal bebas, sehingga semakin banyak gugus -OH dalam suatu sampel maka akan banyak juga

elektron yang berpasangan. Hal inilah yang menyebabkan hubungan antara kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai flavonoid maka semakin tinggi kemampuan antioksidan dalam mendonorkan elektronnya sehingga dapat menurunkan aktivitas radikal bebas (Susiloningrum dan Sari, 2021).

Flavonoid terdiri dari beberapa subkelas utama yang dibedakan oleh struktur cincin C dan tingkat oksidasi. Subkelas ini mencakup flavanol, flavanon, flavon, isoflavon, antosianidin, serta flavonol. Flavanol seperti katekin banyak terdapat dalam teh dan anggur merah. Flavanon seperti naringenin biasanya ditemukan dalam buah-buahan citrus. Flavon seperti apigenin banyak terdapat di daun seledri, daun ketumbar, dan tanaman herbal berdaun hijau. Isoflavon seperti genistein dan daidzein banyak terdapat dalam kedelai. Antosianidin adalah pigmen yang berwarna merah, ungu, atau biru pada buah seperti blueberry dan blackberry. Flavonol contohnya quercetin dan kaempferol dapat ditemukan hampir di semua jenis buah, sayuran, serta zat hijau tanaman obat (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Kadar flavonoid total merupakan jumlah keseluruhan kandungan senyawa flavonoid sebagai metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu tanaman, di mana senyawa flavonoid diperoleh melalui proses ekstraksi (Mustofa dkk., 2023). Nilai kadar flavonoid total tidak menggambarkan identitas atau konsentrasi flavonoid individual, tetapi mencerminkan jumlah total flavonoid yang mampu bereaksi dalam kondisi tertentu dan hasilnya dihitung sebagai *Quercetin Equivalent* (mg QE/g ekstrak) (Effendy, Neldi dan Ramadhani, 2024). Quercetin adalah salah satu flavonoid yang paling banyak diteliti dan dikenal memiliki kemampuan antioksidan yang sangat kuat. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan

metode kolorimetri dengan pereaksi Aluminium klorida (AlCl_3) dan pengukuran absorbansi spektrofotometer UV-Vis. Prinsip metode ini umumnya adalah pembentukan kompleks berwarna antara AlCl_3 dengan gugus fungsional flavonoid (misalnya gugus hidroksil dan karbonil) sehingga menghasilkan perubahan warna yang intensitasnya sebanding dengan konsentrasi flavonoid. Setelah pembentukan kompleks, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum, dan konsentrasi flavonoid dinyatakan dalam mg QE/g ekstrak (Arifin dan Ibrahim, 2018).

D. Radikal Bebas

Menurut Sayuti dan Yernina (2015) radikal bebas merupakan atom, molekul atau senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Kondisi tersebut mendorong radikal bebas untuk mencari pasangan elektron, sehingga mudah bereaksi dengan komponen biologis lain, seperti protein, lipid, DNA dalam tubuh. Secara endogen, sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh, radikal bebas yang terbentuk dan berpengaruh di dalam sel (intrasel) maupun ekstrasel. Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan. Sementara itu, secara eksogen radikal bebas berasal dari berbagai macam makanan dan minuman tertentu, radiasi, polutan lingkungan, serta pestisida.

Ketidakseimbangan antara jumlah antioksidan dengan radikal bebas yang terbentuk akan menyebabkan stres oksidatif atau kerusakan oksidatif. Kondisi ini berpotensi menimbulkan kerusakan jaringan, khususnya apabila disertai proses inflamasi yang melibatkan sel-sel radang. Meskipun demikian, radikal bebas tidak selalu memberikan efek merugikan, karena dalam jumlah dan kondisi tertentu

keberadaannya juga memiliki peran fisiologis dan dibutuhkan oleh tubuh (Sayuti dan Yernina, 2015). Seperti, membantu dalam melawan peradangan, menghancurkan kuman penyebab penyakit, melakukan detoksifikasi racun xenobiotik, mendukung proses sintesis organik yang kompleks, ikut dalam pembentukan dinding sel, serta mengontrol tonus otot polos di pembuluh darah dan organ-organ tubuh (Marjoni, 2022).

E. Antioksidan

1. Definisi antioksidan

Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron. Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Mekanisme kerja antioksidan terjadi melalui pendonoran elektron kepada senyawa oksidan sehingga aktivitas oksidatifnya dapat dihambat. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetis menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Sayuti dan Yernina, 2015).

2. Jenis antioksidan

Antioksidan dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok, yaitu (Parwata, 2016):

- a. Antioksidan endogen yang diproduksi secara alami di dalam tubuh manusia, meliputi enzim antioksidan seperti GPx (*Glutathione Peroxidase*), CAT (*Catalase*) dan SOD (*Superoxide Dismutase*).
- b. Antioksidan sintetis umumnya digunakan dalam produk makanan, seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*), TBHQ (*Tert-Butyl Hydroxy Quinone*), BHA (*Butylated Hydroxy Anisole*).
- c. Antioksidan alami yang berasal dari berbagai bagian tanaman seperti kulit kayu, akar, kayu, daun, bunga, buah-buahan, serbuk sari dan biji-bijian, termasuk vitamin A, C, dan E, serta senyawa fenolik.

3. Mekanisme kerja antioksidan

Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan primer, sekunder, dan tersier (Sayuti dan Yernina, 2015) :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer berperan dalam mencegah terbentuknya radikal baru dengan cara mengubah radikal bebas menjadi molekul yang lebih stabil melalui mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal. Mekanisme ini terjadi ketika antioksidan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada lipid yang bersifat radikal, sehingga senyawa yang dihasilkan lebih stabil dibandingkan senyawa awalnya. Oleh karena itu, antioksidan primer disebut *chain-breaking antioxidant* karena mampu bereaksi langsung dengan radikal lipid dan mengonversinya menjadi bentuk yang kurang efektif.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengikat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkapan oksigen, pengurai hidropersida menjadi senyawa non radikal, penyerapan radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen sehingga oksigen kembali ke bentuk normal sebelum merusak sel.

c. Antioksidan tersier

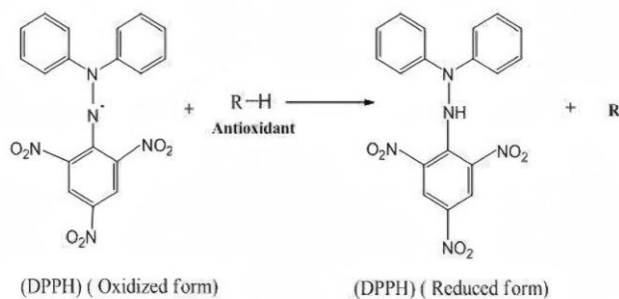
Antioksidan tersier berperan dalam memulihkan biomolekul yang mengalami kerusakan akibat paparan radikal bebas. Contoh dari antioksidan tersier yaitu enzim-enzim yang berperan dalam perbaikan DNA serta enzim metionin sulfida reduktase.

4. Metode uji aktivitas antioksidan

a. Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan. Metode ini memiliki keunggulan karena radikal DPPH bersifat stabil akibat delokalisasi elektron bebas pada seluruh molekul, tidak membentuk dimer, serta tidak memerlukan substrat, sehingga prosedurnya lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih singkat (Mudjiran dan Karneli, 2024). Selain itu, metode DPPH bersifat serbaguna dan dapat diterapkan pada berbagai jenis sampel, termasuk sampel padat, tanpa terikat pada komponen antioksidan tertentu (Mariani, Rahman dan Supriadi, 2018).

Prinsip dasar metode DPPH didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam menangkap radikal DPPH secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Sakka dan Muin, 2022). Reaksi berlangsung ketika atom hidrogen dari senyawa antioksidan berinteraksi dengan elektron bebas dari radikal DPPH, sehingga radikal bebas (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal *diphenylpicrylhydrazine* (Yadnya dan Putra, 2022). Perubahan ini ditandai dengan perubahan dari warna ungu menjadi kuning yang menunjukkan penurunan senyawa radikal bebas oleh antioksidan. Ketika elektron yang tidak berpasangan berinteraksi dengan antioksidan, penurunan absorbansi DPPH menurun. Jumlah elektron yang ditangkap menentukan tingkat penurunan absorbansi, sehingga perubahan warna yang terjadi berlangsung secara proporsional terhadap aktivitas antioksidan (Rumyaan dkk., 2022).



Gambar 2. Mekanisme DPPH Terhadap Aktivitas Antioksidan

Sumber: (Souhoka, Hattu dan Huliselan, 2019)

b. IC_{50} (*Inhibition Concentration*)

Aktivitas antioksidan suatu senyawa diukur melalui parameter IC_{50} , yaitu konsentrasi antioksidan yang mampu menghambat atau mereduksi 50% radikal DPPH. Semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu zat, semakin rendah nilai IC_{50}

yang dihasilkan (Rumyaan dkk., 2022). Berdasarkan nilai IC₅₀-nya, aktivitas antioksidan dapat dikelompokkan sebagai berikut :

Tabel 1
Kategori Nilai IC₅₀ terhadap Aktivitas Antioksidan

Nilai IC ₅₀ (ppm)	Aktivitas Antioksidan
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
150-200	Lemah
>200	Sangat lemah

Sumber: (Souhoka, Hattu dan Huliselan, 2019)

c. AAI (*Antioxidant Activity Indeks*)

Antioxidant Activity Index (AAI) merupakan metode untuk menyajikan hasil uji antioksidan secara lebih terstandar. Metode ini mengacu pada uji berbasis DPPH dan memungkinkan pengelompokan tingkat efektivitas antioksidan. Berdasarkan nilai AAI, suatu senyawa dapat digolongkan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilainya melebihi 2,0 ppm, tergolong kuat jika berada dalam rentang 1,0-2,0 ppm, tergolong sedang pada kisaran 0,5-1,0 ppm, dan dikatakan lemah apabila nilainya di bawah 0,5 ppm (Sawiji dan La, 2021).

Tabel 2
Kategori Nilai AAI terhadap Aktivitas Antioksidan

Nilai AAI (ppm)	Kategori
>2,0	Sangat kuat
1,0-2,0	Kuat
0,5 - 1,0	Sedang
<0,5	Lemah

Sumber: (Sawiji dan La, 2021)

F. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan *Visible* untuk mengukur penyerapan cahaya oleh suatu senyawa. Salah satu kelebihan utamanya dibandingkan teknik analisis lainnya adalah proses pengukurannya yang dapat dilakukan dalam waktu yang relatif singkat (Sahumena dkk., 2020).

Prinsip kerja dari spektrofotometri UV-Vis adalah berdasarkan pada serapan cahaya, di mana atom dan molekul berinteraksi dengan cahaya. Menurut hukum Lambert-Beer, ketika sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar akan diserap, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan. Cahaya dapat dipantulkan, diserap dan material dapat memancarkan cahaya, hal ini bisa terjadi dikarenakan material dapat menyerap dan memancarkan kembali cahaya dikarenakan material tersebut mendapat energi atau dikarenakan suhu yang tinggi (Triastuti dkk., 2023).

Nilai absorbansi yang terbaca mencerminkan banyaknya energi cahaya yang diserap oleh molekul, dan berbanding lurus dengan konsentrasi zat dalam sampel, sehingga peningkatan jumlah molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu akan menghasilkan nilai absorbansi yang lebih tinggi (Mubarakah, Kurniawan dan Kusumaningtyas, 2023). Spektrofotometri UV-Vis memiliki keunggulan karena dapat digunakan untuk analisis senyawa organik maupun anorganik, memberikan prosedur sederhana dalam penetapan kadar zat dalam konsentrasi rendah, serta menghasilkan data yang cepat dan akurat dalam bentuk angka digital atau grafik yang telah diregresi (Wardani, 2021).

Penetapan kadar flavonoid total dapat dilakukan dengan teknik spektrofotometri. Hal ini dimungkinkan karena struktur flavonoid itu sendiri, yang memiliki gugus karbonil terkonjugasi dengan cincin aromatik, mampu menyerap sinar pada panjang gelombang tertentu. Berdasarkan sifat tersebut, analisis kadar flavonoid total umumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan memanfaatkan kuersetin sebagai pembanding atau standar (Nurwanti dkk., 2024). Selain itu, spektrofotometri UV-Vis juga digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan, karena radikal DPPH memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm yang akan menurun setelah direduksi oleh senyawa antioksidan (Setyaningrum, Fitriana dan Samodra, 2021).