

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom, molekul, atau ion yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga sangat reaktif dan tidak stabil. Karena memiliki elektron bebas, senyawa ini berupaya mencari pasangan elektron dari molekul lain untuk mencapai kestabilan, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kerusakan pada struktur biologis seperti protein, lipid, dan DNA (Tumilaar *et al.*, 2023). Dalam konteks biologis, radikal bebas umumnya berupa reactive oxygen species (ROS) dan reactive nitrogen species (RNS) yang berperan dalam berbagai proses fisiologis, tetapi juga dapat menimbulkan efek patologis jika jumlahnya berlebihan (Rahaman *et al.*, 2023).

Radikal bebas dapat dihasilkan dari dua sumber utama, yaitu endogen dan eksogen. Sumber endogen meliputi proses metabolisme normal tubuh, terutama yang terjadi di mitokondria, peroksisom, dan retikulum endoplasma. Reaksi-reaksi enzimatik seperti aktivitas siklooksigenase, lipooksigenase, xantin oksidase, dan NADPH oksidase juga berperan penting dalam pembentukan radikal bebas internal (Tumilaar *et al.*, 2023). Selain itu, proses fagositosis dan inflamasi oleh sel imun juga dapat menghasilkan radikal bebas seperti superoksida dan hidrogen peroksida dalam jumlah besar sebagai mekanisme pertahanan terhadap patogen (Fadlilah & Lestari, 2023). Sementara itu, sumber eksogen berasal dari luar tubuh seperti paparan sinar ultraviolet, polusi udara, asap rokok, pestisida, radiasi pengion, serta bahan kimia tertentu yang dapat meningkatkan akumulasi oksidan dalam tubuh (Nurkhasanah *et al.*, 2023).

Proses pembentukan radikal bebas terjadi melalui tiga tahap utama, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi dimulai ketika suatu molekul netral menerima energi, baik dari panas, sinar UV, maupun proses kimia, yang menyebabkan terlepasnya elektron dan menghasilkan molekul radikal bebas. Selanjutnya, pada tahap propagasi, radikal bebas yang terbentuk bereaksi dengan molekul lain yang stabil dan membentuk radikal baru, sehingga reaksi berantai terus berlangsung. Tahap terminasi terjadi ketika dua radikal bebas bergabung

membentuk senyawa stabil, sehingga rantai reaksi berakhir (Nurkhasanah *et al.*, 2023). Proses ini menunjukkan bahwa pembentukan radikal bebas bersifat berkesinambungan dan dapat menyebabkan kerusakan oksidatif apabila tidak dikendalikan dengan sistem antioksidan yang memadai (Rahaman *et al.*, 2023).

Meskipun dikenal berbahaya, radikal bebas memiliki fungsi penting dalam sistem biologis. Dalam sistem kekebalan tubuh, misalnya, fagosit seperti neutrofil dan makrofag menggunakan radikal bebas untuk menghancurkan mikroorganisme berbahaya melalui proses oksidasi. Namun, apabila produksi radikal bebas melebihi kapasitas penetralan oleh sistem antioksidan, maka dapat terjadi stres oksidatif yang berujung pada kerusakan sel dan jaringan (Fadlilah & Lestari, 2023). Kondisi ini berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif, termasuk kanker, diabetes melitus, aterosklerosis, penyakit jantung koroner, dan penuaan dini (Tumilaar *et al.*, 2024).

B. Antioksidan

Antioksidan adalah molekul yang cukup stabil untuk mendonorkan elektron atau atom hidrogennya kepada senyawa radikal bebas dan menetralkannya, sehingga dapat mengurangi kemampuannya dalam memicu reaksi berantai yang merusak sel. Antioksidan berfungsi untuk menunda atau menghambat kerusakan sel melalui mekanisme penangkapan radikal bebas yang terjadi selama proses metabolisme tubuh (Hasyim Ibroham *et al.*, 2022)

Menurut Nurkhasanah *et al.* (2023), berdasarkan cara kerjanya, antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi tiga jenis utama, yaitu:

1) Antioksidan Primer

Antioksidan primer berfungsi sebagai penghambat pembentukan radikal bebas baru dengan memutus rantai reaksi berantai radikal bebas, sehingga mencegah propagasi lebih lanjut. Jenis ini meliputi enzim seperti Superoksida Dismutase (SOD), Katalase, dan Glutathion Peroksidase (GPx), yang secara langsung mengubah radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil. Mekanisme ini sangat krusial dalam pencegahan kerusakan awal pada membran sel dan molekul biologis lainnya.

2) Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder bekerja dengan menangkap dan menetralkan radikal bebas yang sudah terbentuk, sehingga menghentikan reaksi berantai oksidasi. Contohnya termasuk vitamin E, vitamin C, dan betakaroten, yang mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas untuk menstabilkannya. Jenis ini sering berperan dalam melindungi lipid, protein, dan DNA dari oksidasi, serta membantu memperbaiki kerusakan yang sudah terjadi.

3) Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier, juga dikenal sebagai enzim perbaikan, berfungsi untuk memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas pada molekul biologis seperti DNA, protein, dan membran sel. Contohnya meliputi metionin sulfoksida reduktase, DNA repair enzyme, protease, transferase, dan lipase, yang mengembalikan fungsi normal sel setelah serangan oksidatif. Mekanisme ini penting untuk pemulihan jangka panjang dan pencegahan degenerasi seluler.

Antioksidan berperan penting dalam pencegahan dan pengobatan penyakit, dan dapat diklasifikasikan berdasarkan asal pembuatannya (alami atau sintetik) serta sumber perolehannya (endogen atau eksogen). Antioksidan alami berasal dari tumbuhan dan mencakup senyawa fenolik seperti flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam organik polifungsional, yang bekerja sebagai penangkap radikal bebas. Senyawa ini umumnya ditemukan dalam buah, sayuran, dan biji-bijian. Sebaliknya, antioksidan sintetik diproduksi secara kimiawi, contohnya *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), propil galat (PG).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan endogen diproduksi secara alami oleh tubuh dan terbagi menjadi sistem enzimatis yang bekerja sebagai antioksidan primer, seperti Superoksida Dismutase (SOD), Katalase (CAT), dan Glutation Peroksidase (GPx), serta non-enzimatis, seperti Glutation (GSH). Sementara itu, antioksidan eksogen diperoleh melalui konsumsi makanan, terutama buah, sayuran, dan biji-bijian, dan meliputi vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavonoid, dan asam fenolik. Tanaman obat, termasuk anggota Zingiberaceae seperti jahe,

kunyit, dan temulawak, merupakan salah satu sumber utama antioksidan eksogen (Maulana *et al.*, 2025; Natzir & Syamsul, 2024).

C. Kunyit

1. Tinjauan Umum Tanaman Kunyit

Kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan tanaman rempah dari famili Zingiberaceae yang tersebar luas di daerah tropis dan tumbuh baik di negara-negara Asia seperti India yang merupakan produsen dan pengeksport terbesar serta Indonesia yang juga mencatat produksi tinggi setiap tahunnya. Tanaman ini mampu beradaptasi pada kawasan beriklim tropis dengan penyinaran penuh hingga sedang dan dapat tumbuh dari dataran rendah hingga dataran tinggi dengan kisaran ketinggian 0–240 meter di atas permukaan laut, bahkan beberapa laporan mencatat dapat tumbuh hingga 2000 mdpl, meskipun pertumbuhan optimalnya berada pada sekitar 45 mdpl, serta membutuhkan tanah gembur seperti latosol, aluvial, dan regosol dengan curah hujan 1000–4000 mm per tahun sehingga memungkinkan kunyit berkembang baik di berbagai wilayah tropis dengan kondisi lingkungan yang sesuai (Harmini & Wibisana, 2023; Shapna *et al.*, 2023).

Berikut ini klasifikasi tanaman kunyit (Lianah, 2020):

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i> (tumbuhan berbiji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Liliopsida</i> (monokotil)
Subkelas	: <i>Zingiberidae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Curcuma</i>
Spesies	: <i>Curcuma longa</i>

2. Morfologi Tanaman Kunyit

a. Batang

Kunyit memiliki batang semu (pseudostem) yang terbentuk dari susunan pelepah daun yang saling menutupi dan berbalut erat satu sama lain. Batang semu ini berbentuk bulat dengan permukaan yang licin dan bertekstur basah, mampu

menyimpan cadangan air dengan baik pada jaringan batangnya. Batang tumbuh tegak lurus menghadap ke atas dengan warna hijau hingga hijau kecoklatan, dan dapat mencapai ketinggian maksimal 1-1,5 meter tergantung kondisi lingkungan. Struktur batang ini bersifat monopodial dan akan bermodifikasi menjadi rimpang di bagian bawah tanah sebagai organ penyimpanan cadangan makanan (Azima *et al.*, 2024; Nurokhman *et al.*, 2022)

b. Daun

Daun kunyit merupakan daun lengkap yang terdiri dari tiga bagian utama yaitu pelepah daun (vagina), tangkai daun (petioles), dan helaian daun (lamina). Daun tersusun secara berselang-seling mengikuti pelepahnya dengan jumlah 3-8 helai per batang. Helaian daun berbentuk bulat memanjang (oblongus) dengan permukaan agak kasar, berwarna hijau muda yang akan berubah warna dan layu ketika sudah tua. Pertulangan daun bertipe menyirip dengan pola venasi yang dapat bervariasi antara rapat atau berjarak. Ukuran daun cukup besar dengan panjang mencapai 20-30 cm dan lebar 15-20 cm, dengan ujung daun meruncing atau melengkung menyerupai ekor dan tepi daun yang rata. Daun kunyit termasuk daun amfistomatik karena memiliki stomata pada kedua permukaan daun, meskipun lebih banyak terdapat di bagian abaksial (bawah) (Azima *et al.*, 2024; Vimala Guna & Purnomo, 2021). Karakteristik morfologi daun kunyit (*Curcuma longa* L.) tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Daun Kunyit

(Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2026)

c. Bunga

Bunga kunyit berbentuk bulir majemuk dengan panjang 10-15 cm yang muncul dari samping batang atau langsung dari rimpang dengan tangkai sepanjang 20-45 cm. Perbungaan memiliki daun pelindung (braktea) berwarna hijau hingga kekuningan atau merah muda. Bunga bersifat biseksual dan zigomorf dengan struktur kelopak menabung dan mahkota memanjang berwarna putih dengan tepi berwarna merah hingga kuning atau merah muda hingga ungu. Bunga tersusun atas tiga helai kelopak dalam satu tajuk. Fase perbungaan berlangsung antara 109-155 hari setelah tanam dengan periode pemekaran sekitar 7-11 hari, biasanya terjadi antara bulan September hingga Desember. Namun demikian, kunyit jarang menghasilkan bunga dan biji karena tingkat sterilitasnya yang tinggi (Nurokhman *et al.*, 2022; Vimala Guna & Purnomo, 2021).

d. Rimpang

Rimpang kunyit kuning merupakan modifikasi batang yang tumbuh di dalam tanah dan berfungsi sebagai organ penyimpanan cadangan makanan. Rimpang berbentuk bulat memanjang hingga silindris dengan percabangan yang membentuk rimpang utama dan rimpang samping. Struktur anatomis rimpang terdiri dari epidermis, hipodermis, korteks yang tersusun atas sel-sel parenkim, berkas pengangkut tipe kolateral tertutup, dan sel-sel minyak yang tersebar di korteks. Kulit rimpang berwarna coklat keputihan hingga oranye dengan permukaan yang keras dan beraroma khas, sedangkan daging rimpang berwarna kuning oranye cerah hingga kuning tua akibat kandungan senyawa kurkumin. Sistem perakaran kunyit adalah akar serabut yang bercabang kuat dengan warna coklat kekuningan hingga hijau gelap, tumbuh dari bagian bawah rimpang (Azima *et al.*, 2024; Nurokhman *et al.*, 2022; Vimala Guna & Purnomo, 2021).

3. Kandungan Daun Kunyit

Daun kunyit (*Curcuma longa* L.) memiliki kandungan senyawa fitokimia yang beragam, termasuk alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, dan triterpenoid/steroid. Senyawa alkaloid terdapat pada ekstrak daun kunyit yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol dan etil asetat, sedangkan flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin ditemukan pada ekstrak dengan pelarut air, metanol, dan etil asetat. Triterpenoid/steroid hanya teridentifikasi pada ekstrak yang

menggunakan etil asetat sebagai pelarut. Hal ini menunjukkan bahwa pilihan pelarut memengaruhi ekstraksi senyawa fitokimia, di mana alkaloid lebih mudah terekstrak dengan pelarut organik polar, sementara flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin lebih larut dalam pelarut polar seperti air dan metanol. Selain itu, daun kunyit juga mengandung senyawa bioaktif seperti curcumin, senyawa fenolik, dan flavonoid yang diketahui memiliki aktivitas antiradikal bebas. Kandungan ini memberikan potensi sebagai sumber antioksidan dan pencegah penyakit seperti kanker serta penuaan dini (Harmini & Wibisana, 2023).

Minyak esensial pada daun kunyit mengandung berbagai senyawa volatil yang memberikan manfaat kesehatan, antara lain α -phellandrene, α -pinene, β -pinene, myrcene, p-cymene, limonene, dan 1,8-cineole yang memiliki aktivitas larvisida. Selain itu, terdapat cis-sesquisabinene hydrate, curzerenone, β -bisabolol, dan farnesol yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan dan antimikrobia. Kadar minyak esensial pada daun kunyit berkisar antara 0,37% hingga 1,62%, lebih rendah dibandingkan dengan rimpang kunyit yang mencapai 3,05% hingga 4,45%. Meskipun kadarnya rendah, minyak esensial daun kunyit memiliki potensi sebagai bahan fungsional dalam industri makanan dan obat-obatan (Harmini & Wibisana, 2023).

D. Simplisia

Simplisia merupakan bahan dasar dari tanaman obat yang belum mengalami pengolahan kimiawi apapun, biasanya dalam bentuk bahan kering seperti daun, akar, batang, atau biji. Simplisia digunakan sebagai bahan obat tradisional karena mengandung metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai obat. Penggunaan simplisia penting dalam industri farmasi, jamu, kosmetik, dan makanan, karena memungkinkan penyimpanan jangka panjang tanpa merusak kandungan aktifnya. Proses pembuatan simplisia bertujuan untuk mengurangi kadar air, mencegah pertumbuhan mikroba, dan menjaga mutu bahan agar tetap stabil dan efektif sebagai obat. Tahapan pembuatan simplisia meliputi serangkaian proses yang dimulai dari pengumpulan bahan baku hingga penyimpanan akhir. Proses ini dirancang untuk menjaga integritas kandungan senyawa aktif, dengan pengeringan sebagai tahap kunci yang mempengaruhi mutu akhir (Maslahah, 2024).

Berikut adalah tahapan pembuatan simplisia :

1. Pengumpulan Bahan Baku

Tahap awal melibatkan pemilihan dan pemanenan bahan tanaman yang segar. Bahan dipilih dari bagian tanaman yang sesuai, menggunakan alat non-logam untuk menghindari reaksi yang merusak metabolit sekunder (Maslahah, 2024). Faktor-faktor penting yang perlu diperhatikan selama proses pengumpulan tanaman meliputi usia tanaman, waktu panen, dan habitatnya. Waktu panen sangat berkaitan erat dengan pembentukan kandungan senyawa aktif di dalam tanaman tersebut. Secara umum, waktu panen yang tepat adalah saat senyawa tersebut terbentuk dalam jumlah besar pada rentang usia tanaman tertentu (Lady *et al.*, 2020).

2. Sortasi Basah

Proses pemilahan dilakukan saat bahan masih segar untuk memisahkan kotoran, kerikil, rumput liar, atau bagian tanaman yang cacat. Ini memastikan hanya bahan berkualitas tinggi yang diproses selanjutnya, mencegah kontaminasi yang dapat menurunkan mutu simplisia (Maslahah, 2024).

3. Pencucian

Bahan dicuci dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan debu, kotoran, atau benda asing lainnya. Proses ini dilakukan secara cepat untuk menghindari pelarutan senyawa aktif yang mudah larut dalam air, sehingga kandungan tetap terjaga (Maslahah, 2024).

4. Perajangan

Bahan dirajang menjadi ukuran yang seragam menggunakan pisau dengan alas, untuk memperluas permukaan bahan. Ini mempercepat proses pengeringan selanjutnya dan memastikan pengeringan merata (Maslahah, 2024).

5. Pengeringan

Tahap utama dalam proses ini adalah pengeringan, di mana air dikeluarkan dari sampel melalui pemanasan sehingga menghasilkan produk kering. Faktor eksternal yang memengaruhi pengeringan meliputi suhu, kelembaban, tekanan udara, dan kecepatan angin, sedangkan faktor internal yang berperan penting antara lain kadar air, bentuk, luas permukaan, serta kondisi fisik sampel. Pengeringan dapat dilakukan secara tradisional dengan menjemur sampel di

bawah sinar matahari selama sekitar 2-3 hari, atau secara modern menggunakan alat seperti oven, rak pengering, atau fresh dryer yang hanya memerlukan waktu sekitar 6-8 jam dengan suhu yang dapat disesuaikan sesuai kebutuhan. Proses pengeringan ini mencegah penurunan kualitas simplisia yang disebabkan oleh kadar air tinggi dalam sampel, sehingga reaksi enzimatik tidak akan terjadi (Lady *et al.*, 2020).

6. Pengayakan atau Penghalusan

Setelah kering, bahan dihaluskan menggunakan blender atau alat penghalus, lalu diayak untuk mendapatkan ukuran partikel seragam. Ini memudahkan ekstraksi senyawa aktif dan meningkatkan luas permukaan untuk interaksi dengan pelarut (Maslahah, 2024).

7. Penyimpanan

Simplisia disimpan dalam wadah yang sesuai untuk mempertahankan mutu jangka panjang. Faktor seperti oksidasi, cahaya, kelembaban, dan kontaminasi harus dikontrol agar senyawa aktif tidak rusak. Penyimpanan yang baik memungkinkan simplisia digunakan untuk proses selanjutnya seperti ekstraksi atau formulasi obat (Maslahah, 2024).

E. Ekstraksi Remaserasi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan atau hewan menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut akan masuk ke dalam jaringan, menyebabkan dinding sel membengkak dan pori-pori melebar sehingga senyawa di dalam sel dapat larut dan keluar karena adanya perbedaan konsentrasi. Jumlah dan jenis senyawa yang berhasil diperoleh dipengaruhi oleh jenis pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

Terdapat berbagai metode ekstraksi seperti perkolasi, refluks, soxhletasi, infusa, dekoktasi, dan destilasi, namun metode yang sering digunakan adalah maserasi dan remaserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi cara dingin yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut pada suhu kamar selama waktu tertentu sambil sesekali diaduk, kemudian disaring untuk memisahkan cairan ekstrak. Metode ini sederhana, mudah dilakukan, tidak memerlukan alat yang rumit, dan cocok digunakan untuk senyawa yang tidak

tahan panas karena tanpa proses pemanasan. Namun, maserasi memerlukan waktu lebih lama dan penggunaan pelarut relatif banyak (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

Remaserasi merupakan pengembangan dari maserasi, yaitu proses perendaman yang dilakukan berulang kali dengan mengganti pelarut baru setelah penyaringan pertama. Tujuan remaserasi adalah meningkatkan efektivitas penarikan senyawa aktif dan mencegah kejenuhan pelarut. Dengan adanya pergantian pelarut, senyawa metabolit sekunder dapat tersari lebih optimal dibandingkan maserasi biasa. Penelitian menunjukkan bahwa metode remaserasi dapat menghasilkan rendemen ekstrak lebih tinggi dibandingkan maserasi, meskipun kandungan senyawa aktif yang diperoleh umumnya tetap sama (Ningsih *et al.*, 2022).

F. Uji Kualitatif Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahapan awal dalam penelitian senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan untuk mengetahui keberadaan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai bahan aktif obat. Proses ini berfungsi untuk mengidentifikasi golongan senyawa kimia alami yang berperan dalam aktivitas biologis, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid. Skrining dilakukan secara kualitatif untuk mendeteksi adanya senyawa berdasarkan perubahan warna atau pembentukan endapan yang spesifik terhadap pereaksi tertentu (Luciana *et al.*, 2024).

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok senyawa organik yang mengandung atom nitrogen dan bersifat basa. Senyawa ini umumnya berasal dari asam amino dan dapat ditemukan pada berbagai bagian tumbuhan, termasuk daun, batang, akar, maupun buah. Alkaloid diketahui memiliki beragam aktivitas farmakologis, antara lain sebagai analgesik, antitumor, antiinflamasi, dan antibakteri. Contoh senyawa alkaloid yang umum meliputi morfin, kafein, dan nikotin, yang masing-masing memiliki peranan signifikan dalam praktik medis dan fisiologi manusia. Dalam skrining fitokimia, alkaloid dapat dideteksi melalui pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Adanya endapan putih pada pereaksi Mayer, endapan kuning pada pereaksi Wagner, serta endapan coklat kemerahan pada pereaksi Dragendorff

menunjukkan hasil positif. Prosedur pengujian dilakukan dengan menambahkan NH_3 dan kloroform ke dalam sampel, diikuti dengan pemberian pereaksi-pereaksi tersebut, sehingga perubahan warna mengindikasikan keberadaan alkaloid dalam ekstrak tumbuhan.

2. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang banyak dijumpai pada buah, sayuran, biji, dan bunga. Struktur dasarnya terdiri atas dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh rantai karbon tiga ($\text{C}_6\text{--C}_3\text{--C}_6$). Flavonoid memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk antioksidan, antiinflamasi, antikanker, serta perlindungan terhadap radiasi ultraviolet. Senyawa ini juga mampu berinteraksi dengan ion logam dan radikal bebas, sehingga melindungi sel dari stres oksidatif. Deteksi kualitatif flavonoid dilakukan menggunakan pereaksi logam magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl) melalui uji Shinoda. Prosedurnya meliputi pelarutan 100 mg ekstrak dalam metanol, kemudian penambahan serbuk Mg dan HCl dengan perbandingan 1:1. Terbentuknya warna merah atau ungu menandakan hasil positif, karena senyawa flavonoid tereduksi membentuk kompleks berwarna akibat interaksi dengan logam.

3. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol kompleks dengan berat molekul tinggi yang tersebar luas dalam tumbuhan. Senyawa ini dikenal memiliki rasa sepat (astringen) dan kemampuan mengikat protein. Tanin menunjukkan aktivitas antioksidan, antibakteri, antiviral, serta digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi luka, diare, dan inflamasi. Skrining tanin dilakukan dengan pereaksi FeCl_3 (5%), di mana terbentuknya warna biru tua atau hitam menandakan hasil positif. Tanin dapat dibedakan menjadi dua jenis: tanin terhidrolisis, yaitu polimer ester dari asam galat dan asam ellagik, serta tanin terkondensasi, berupa polimer flavonoid seperti katekin dan galocatechin.

4. Saponin

Saponin termasuk kelompok senyawa glikosida yang tersusun atas inti triterpenoid atau steroid yang terikat pada molekul gula. Senyawa ini bersifat amfipatik dan mampu membentuk busa saat dilarutkan dalam air. Secara biologis, saponin memiliki efek penurunan kolesterol, meningkatkan sistem imun, serta

bersifat antimikroba. Deteksi saponin dilakukan melalui uji buih (foam test) dengan melarutkan 2 mL ekstrak dalam air panas dan mengocoknya kuat selama 15 detik. Terbentuknya busa stabil setinggi $\pm 1-2$ cm yang bertahan selama 10 menit menandakan hasil positif. Uji ini memanfaatkan sifat saponin dalam menurunkan tegangan permukaan air sehingga membentuk busa.

5. Antosianin

Antosianin adalah subkelas flavonoid yang berperan sebagai pigmen alami pada tumbuhan, memberikan warna merah, ungu, dan biru pada bunga, buah, dan daun. Senyawa ini melindungi tumbuhan dari sinar ultraviolet dan stres oksidatif serta menarik penyerbuk. Antosianin juga memiliki manfaat sebagai antioksidan alami yang mampu menetralkan radikal bebas. Identifikasi antosianin biasanya dilakukan melalui uji perubahan pH, di mana warna pigmen berubah dari merah (pH asam) menjadi ungu atau biru (pH netral-basa), mencerminkan sifat pH-sensitif dari struktur antosianin yang bertransformasi antara bentuk kation flavilium dan basa kuinoidal.

6. Terpenoid dan Steroid

Terpenoid adalah senyawa organik yang tersusun dari unit isoprena (C_5H_8) dan banyak dijumpai pada minyak atsiri tumbuhan. Senyawa ini berfungsi sebagai mekanisme pertahanan alami terhadap hama dan patogen serta memberikan aroma khas pada tanaman. Secara farmakologis, terpenoid memiliki aktivitas antiinflamasi dan antimikroba. Steroid merupakan turunan terpenoid lipid dengan empat cincin karbon menyatu, yang berperan sebagai prekursor kolesterol, hormon, dan sterol pada hewan. Steroid menunjukkan aktivitas kardiotonik, antiparasit, dan antimikroba. Skrining terpenoid dan steroid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, yaitu campuran asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat, di mana warna ungu atau merah menunjukkan keberadaan terpenoid, sedangkan warna hijau atau biru menandakan steroid.

G. Uji Aktivitas Antioksidan

Secara umum, terdapat berbagai metode yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu senyawa dalam menangkap radikal bebas. Beberapa metode yang sering digunakan yaitu, ABTS (*2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-*

sulfonat), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Namun, dalam penelitian ini, fokus utama pengujian dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan teknik analisis yang paling sering digunakan karena prosedurnya yang sederhana, cepat, dan tidak membutuhkan banyak reagen. Metode ini sangat efektif untuk mengevaluasi kemampuan suatu ekstrak dalam menangkap radikal bebas secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri.

Prinsip dasar metode ini melibatkan mekanisme transfer elektron atau atom hidrogen. Radikal DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan bereaksi dengan senyawa antioksidan yang mendonasikan atom hidrogennya. Reaksi ini menyebabkan radikal DPPH yang tidak stabil berubah menjadi molekul DPPH-H yang lebih stabil. Secara visual, reaksi ini ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu (violet) menjadi kuning. Perubahan intensitas warna tersebut diukur melalui penurunan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum sekitar 517–520nm. Tingkat penurunan nilai absorbansi berbanding lurus dengan kekuatan antioksidan dalam sampel. Semakin rendah nilai absorbansi yang terbaca, semakin tinggi kemampuan senyawa tersebut dalam meredam radikal bebas, yang mencerminkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat (Asrifaturofingah *et al.*, 2024; Devitria, 2020; Faisal *et al.*, 2022).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dinyatakan dalam bentuk konsentrasi efektif dengan nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*). IC_{50} merupakan parameter yang dapat digunakan dalam mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak sampel. Nilai dari IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50%. Aktivitas antioksidan yang tinggi ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai IC_{50} (Agustina, 2020). Berdasarkan nilai IC_{50} , aktivitas antioksidan dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa kategori kekuatan. Klasifikasi tersebut disajikan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1 Kategori Kekuatan Antioksidan

Nilai IC ₅₀	Kekuatan
<50ppm	Sangat Kuat
50-100ppm	Kuat
100-150ppm	Sedang
150-200ppm	Lemah
>200ppm	Sangat lemah

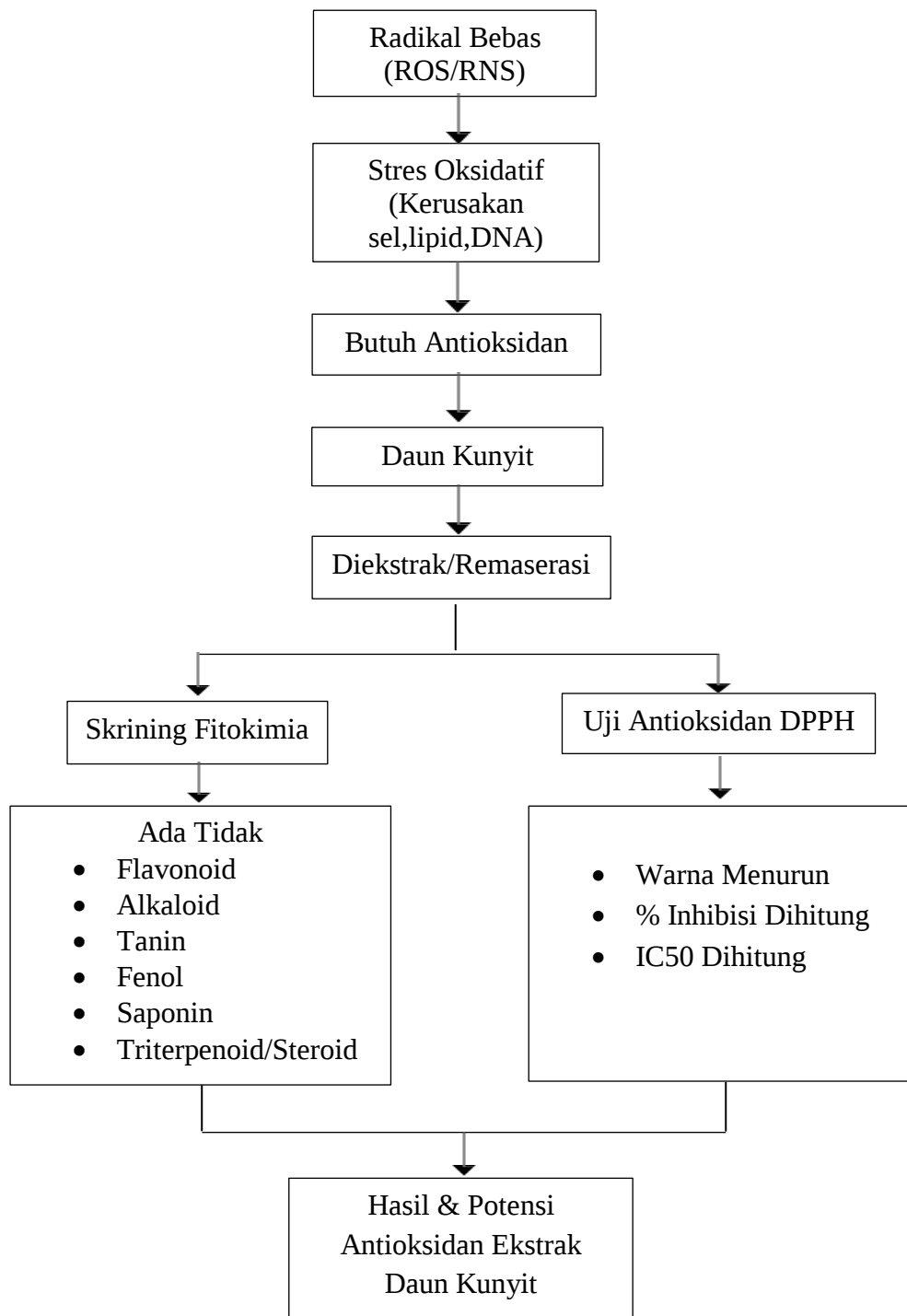
Sumber :(Oktaria & Marpaung, 2023).

H. Metode Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu instrumen analisis kimia yang wajib dikalibrasi. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dari suatu sampel yang dianalisis (Sulistyani *et al.*, 2023). Proses dimulai dari sumber cahaya, seperti lampu deuterium atau wolfram, yang menghasilkan cahaya polikromatis. Cahaya ini diteruskan melalui lensa ke monokromator pada spektrofotometer atau filter pada fotometer. Monokromator mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya dengan panjang gelombang tunggal, yang kemudian diarahkan melalui sampel. Sebagian cahaya diserap oleh sampel, sedangkan sisanya diteruskan dan ditangkap oleh detektor. Detektor mengukur intensitas cahaya untuk menghitung absorbansi, yang berbanding lurus dengan konsentrasi zat dalam sampel (Sari & Hastuti, 2020).

Hasil analisis spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk keperluan kualitatif dan kuantitatif. Analisis kuantitatif pada spektrofotometer UV-Vis dapat dilakukan menggunakan dua metode yaitu metode adisi standar dan metode kurva kalibrasi. Metode kurva kalibrasi biasa digunakan untuk mengetahui kadar suatu sampel dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh dari pembacaan absorbansi larutan standar (Sulistyani *et al.*, 2023). Pengukuran spektrofotometri UV-Vis menggunakan alat spektrofotometer dengan melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih sering dipakai untuk analisis kuantitatif dari pada kualitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan biasa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Hasanah *et al.*, 2023).

I. Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep