

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Bayam merah atau *Amaranthus tricolor*-varietas *Blitum rubrum* merupakan jenis tanaman pangan yang biasa digunakan sebagai sayuran, serta dikenal sebagai salah satu sumber zat besi yang penting. Bayam (*Amaranthus spp.*) merupakan tanaman semusim yang berasal dari daerah Amerika Tropis. Di Indonesia hanya dikenal dua jenis bayam budidaya, yaitu bayam cabut (*Amaranthus tricolor*) dan bayam kakap (*Amaranthus hybridus*). Bayam kakap disebut juga sebagai bayam tahun, bayam turus atau bayam bathok, dan ditanam sebagai bayam petik. Bayam cabut terdiri dari dua varietas, yang salah satunya adalah bayam merah (Saparinto dan Maya, 2014).

Bayam merah mempunyai nama simplisia *Folium Amaranthi tricoloris* (daun bayam), (Sunarjono, 2014). Tanaman bayam merah memiliki berdaun tunggal dengan ujung meruncing, lunak, dan lebar, batangnya lunak dan bercabang. Tanaman ini berbentuk semak, berakar tunggang dan berakar samping (Sunarjono, 2014)..



**Gambar 2.1 Daun Bayam Merah**

### 2.1.1 Klasifikasi Bayam Merah

Menurut Saparinto (2013), tanaman bayam merah dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*  
Sub kingdom : *Tracheobionta*  
Super Divisi : *Spermatophyta*  
Divisi : *Magnoliophyta*  
Kelas : *Magnoliopsida*  
Sub Kelas : *Hamamelidae*  
Ordo : *Caryophyllales*  
Famili : *Amaranthaceae*  
Genus : *Amaranthus*  
Spesies : *Amaranthus tricolor L*

### 2.1.2 Morfologi Tumbuhan

Tanaman bayam memiliki akar perdu ( terma ) akar tanaman bayam ini akan menembus tanah hingga kedalaman 20-40 cm bahkan lebih. Akar tanaman bayam ini tergolong akar tunggang dan memiliki serabutan di bagian atasnya. Batangnya lunak dan berwarna putih kemerah-merahan.

Bayam merupakan tanaman yang berbentuk perdu dan tingginya dapat mencapai  $\pm 1\frac{1}{2}$  meter. Bayam merah memiliki ciri- ciri berdaun tunggal, ujung runcing, lunak, dan lebar. Batangnya lunak dan berwarna putih kemerah-merahan. bunga bayam merah ukurannya kecil mungil dari ketiak daun dan ujung batang pada rangkaian tandan. Buahnya tidak berdaging, tetapi bijinya banyak, sangat kecil, bulat, dan mudah pecah. tanaman ini memilki akar tunggang dan berakar samping. Akar sampingnya kuat dan agak dalam (Sunarjono, 2014).

Bunga bayam berukuran kecil, berjumlah banyak terdiri dari daun bunga 4 – 5 buah, benang sari 1 – 5 dan bakal buah 2 – 3. Bunga keluar dari ujung – ujung tanaman atau dari ketiak daun yang tersusun dari malai yang tumbuh tegak. Tanaman dapat berbunga sepanjang musim. Perkawinannya bersifat

unisexual yaitu dapat menyerbuk sendiri maupun menyerbuk silang. Penyerbukan berlangsung dengan bantuan angin dan serangga (Nazruddin, 2000).

Biji berukuran sangat kecil dan halus berbentuk bulat, dan berwarna coklat tua sampai mengkilap hitam kelam. Setiap tanaman dapat menghasilkan biji kira – kira 1200 – 3000 biji/g (Wirakusumah, 1998). Alat reproduksi bayam merah yaitu secara generatif (biji), dan dari setiap tandan bunga dapat dihasilkan ratusan hingga ribuan biji.

Tanaman bayam dapat tumbuh sepanjang tahun, baik di dataran rendah maupun di dataran tinggi (pegunungan) sampai ketinggian 2000m dpl. Bayam akan tumbuh dengan baik pada tempat yang terbuka. Bayam termasuk salah satu jenis sayuran yang tahan terhadap air hujan. Jadi tanaman bayam dapat ditanam sepanjang tahun, asalkan pada musim kemarau diperhatikan penyiramannya. Derajat keasaman tanah (pH) tanah yang cocok untuk pertumbuhannya berkisar antara 6-7. Curah hujan yang cocok per tahunnya adalah 1500mm, membutuhkan cahaya matahari penuh, dan suhu tanah berkisar antara 16-20°C, serta kelembaban tanahnya 40-60%.

Tanaman bayam berasal dari daerah Amerika tropik dan biasa tumbuh di daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia. Bayam adalah tanaman sayuran yang punya nama ilmiah *Amaranthus*. Kata „maranth,, berasal dari bahasa Yunani yang berarti “everlasting” atau abadi.

Tanaman bayam pada mulanya dikategorikan sebagai tanaman hias saja, yang biasa ditanam untuk pekarangan rumah. Seiring berjalannya waktu, tanaman bayam berubah menjadi bahan pangan. Bayam diperkirakan masuk ke Indonesia pada abad 19 saat Indonesia menjadi tempat lalu lintas perdagangan internasional. Di Indonesia, bayam dapat hidup sepanjang tahun dan biasa ditanam pada ketinggian 2 hingga 5 meter, bisa tumbuh di daerah panas dan dingin, namun tumbuh lebih subur pada dataran rendah dengan lahan terbuka yang udaranya agak panas.

### 2.1.3 Manfaat Daun Bayam Merah

Secara umum, bayam merah memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan, seperti membantu mengurangi pembentukan batu empedu karena bayam tinggi akan magnesium, pencegah anemia karena bayam mengandung zink, dan zat besi (tidak mudah diserap tubuh) (Ariyanto, 2008). Bayam dapat memperbaiki daya kerja ginjal dan melancarkan pencernaan. Selain itu, bayam sangat baik untuk orang yang baru sembuh dari penyakit, terutama anak-anak dan bayi. Untuk bayi, bayam dapat dicampur dengan nasi tim. Adapun akar bayam merah dapat digunakan sebagai obat penyakit disentri. Bayam dapat pula dibuat sayur bening, pecel, gado-gado, dan lain sebagainya. Bayam sangat mudah dimasak. Sekitar lima menit direbus dalam air mendidih sudah masak. Perebusan yang terlalu lama akan menjadikannya hancur dan vitamin C-nya hilang. Bayam harus dikonsumsi paling lama 12 jam setelah dimasak karena kandungan vitamin dan mineralnya akan berkurang (Santoso, 2011). Dalam bayam merah terdapat kandungan protein, lemak, karbohidrat, serat, mineral, vitamin, dan asam oksalat (Rumimper dkk, 2014). Menurut Purnawijayanti (2009) zat aktif yang berperan sebagai antioksidan dalam bayam merah mengandung karotenoid (karoten) dan flavonoid (lutein dan kuersetin).

### 2.1.4 Kandungan Daun Bayam Merah

**Tabel 2.1 Kandungan Bayam**

| No | Jenis Makanan | Kandungan Jenis Mineral (mg/100gram) |        |      | Kandungan Vitamin tiap 100gram |             |            | Keterangan |
|----|---------------|--------------------------------------|--------|------|--------------------------------|-------------|------------|------------|
|    |               | Kalsium                              | Fosfor | Besi | Vit A (SI)                     | Vit B1 (mg) | Vit C (mg) |            |
| 1  | Bayam         | 267                                  | 67     | 39   | 6090                           | 0,08        | 80         | Provit A   |
| 2  | Bayam merah   | 368                                  | 111    | 2,2  | 5800                           | 0,08        | 80         | Provit A   |

Menurut Sunarya (2010) dalam bukunya "Memilih Makanan Sehat dan Bergizi", kandungan bayam dapat dilihat pada tabel 2.1

## **2.2 Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan dan madu. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga. (FI Edisi IV, 1995 )

## **2.3 Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. (FI Edisi IV, 1995).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Harborne, 1987).

Menurut Depkes RI (2000), ada beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan antara lain yaitu:

### **2.3.1 Cara Dingin**

#### **a. Maserasi**

Maserasi adalah penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut disertai sesekali pengadukan pada temperatur kamar. Maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus menerus disebut maserasikinetik, sedangkan yang dilakukan penambahan ulang pelarut setelah dilakukan penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi.

#### b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan alat perkolator dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh perkolat.

### **2.3.2 Cara Panas**

#### a. Refluks

Refluks adalah proses penyarian simplisia pada temperatur titik didihnya menggunakan alat dengan pendingin balik dalam waktu tertentu dimana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu.

#### b. Digesti

Digesti adalah proses penyarian dengan pengadukan kontinu pada temperatur lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

#### c. Sokletasi

Sokletasi adalah proses penyarian menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan dengan menggunakan alat khusus (soklet) dimana pelarut akan terkondensasi dari labu menuju pendingin, kemudian jatuh membasahi sampel.

#### d. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit.

#### e. Dekoktasi

Dekoktasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit.

### **2.4 Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan juga berguna untuk mencegah oksidasi komponen makanan yang mengandung senyawa tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap) misalnya minyak dan lemak. Kombinasi beberapa

jenis oksidasi antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) dibanding dengan satu jenis antioksidan saja (Ramadhan, 2015).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, dan menahan pembentukan oksigen reaktif atau radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan elektron dengan mengikat sel-sel tubuh. Apabila hal tersebut terjadi secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Lautan, 1997). Antioksidan ditujukan untuk mencegah dan mengobati penyakit seperti aterosklerosis, stroke, diabetes, alzheimer, dan kanker (Aqil, Ahmad dan Mehmood, 2006).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini serta penyakit degeneratif lainnya. Persyaratan (sesuai peraturan undang-undang) : Antioksidan sebagai bahan tambahan pangan batas maksimum penggunaannya telah diatur oleh Peraturan Menteri kesehatan RI Nomor 772/Menkes/Per/IX/88 tertulis dalam lampiran I, antioksidan yang diizinkan penggunaannya antara lain asam askorbat, asam eritrobat, askorbil palmitat, askorbil stearat, butil hidroksilanisol (BHA), butil hidrokinin tersier, butil hidroksitoluen, dilauril tiodipropionat, propil gallat, timah (II) klorida, alpha tokoferol, tokoferol, campuran pekat (Cahyadi, 2008).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia). Sedangkan berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan enzimatis. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase. Enzim-enzim ini menghambat pembentukan radikal bebas dengan

cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan kelompok ini disebut juga chain-breaking-antioxidant (Winarsi, 2007).

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non enzimatis. Cara kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen seluler. Contoh antioksidan sekunder ialah vitamin E, vitamin C, flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin (Lampe, 1999).

Antioksidan tersier contohnya enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang dirusak oleh radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya single dan double stand, baik gugus basa maupun non-basa. Perbaikan kerusakan basa dalam DNA yang diinduksi senyawa oksigen reaktif terjadi melalui perbaikan jalur eksisi basa. Pada umumnya, eksisi basa terjadi dengan cara memusnahkan basa yang rusak, yang dilakukan oleh DNA glikosilase (Winarsi, 2007).

## **2.5 Uji Efek Antioksidan**

### **a. Uji DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil)**

DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat adalah radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk nonradikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Yu, 2008).

Metode DPPH adalah metode yang paling sering digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman obat. Peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambat radikal bebas. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan

serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya yang sebanding terhadap konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan reagen DPPH. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi efektif (*effective concentration*), EC50 atau *inhibitory concentration*, IC50 (Amelia, 2011).

Nilai IC50 merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ( $\mu\text{g/ml}$ ) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi ( $Y=AX+B$ ) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50  $\mu\text{g/ml}$ , kuat untuk IC50 bernilai 50-100  $\mu\text{g/ml}$ , sedang jika IC50 bernilai 100-150  $\mu\text{g/ml}$  dan lemah jika IC50 bernilai 151-200  $\mu\text{g/ml}$  (Putri dkk, 2015).

Parameter penentuan potensi aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dinyatakan dengan parameter IC50 yaitu konsentrasi uji yang menyebabkan peredaman radikal bebas sebesar 50%. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2.5.

**Tabel 2.5 Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan**

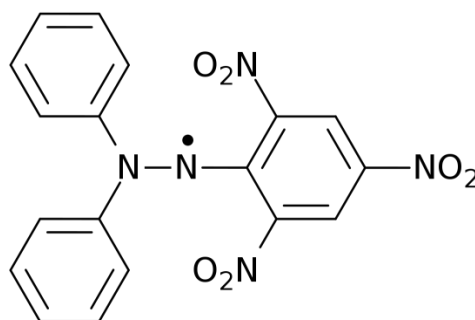
| No. | Kategori    | Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|-----|-------------|----------------------------------|
| 1.  | Sangat Kuat | <50                              |
| 2.  | Kuat        | 50-100                           |
| 3.  | Sedang      | 101—150                          |
| 4.  | Lemah       | 151-200                          |

## 2.6 Penentuan Efek Antioksidan dengan Metode DPPH

Salah satu uji yang dapat dilakukan untuk menentukan potensi antioksidan suatu senyawa adalah dengan menguji kemampuannya dalam meredam senyawa radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan

untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam (Gurav, dkk., 2007).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan radikal bebas dari DPPH dan membentuk reduksi DPPH. Warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 516 nm akan hilang jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan. Perubahan inidapat diukur sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat reduktor. Suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan (Molyneux, 2004).



**Gambar 2.2 Struktur DPPH (Molyneux, 2004).**

Lama pengukuran metode DPPH menurut beberapa literatur yang direkomendasikan adalah selama 60 menit, tetapi dalam beberapa penelitian waktu yang digunakan sangat bervariasi yaitu 5 menit, 10 menit, 20 menit, 30 menit dan 60 menit. Kenyataannya waktu reaksi yang benar adalah ketika reaksi sudah mencapai kesetimbangan. Kecepatan reaksi dipengaruhi oleh sifat dari aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam sampel. Cara ini biasanya dilakukan jika digunakan pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Kestabilan senyawa produk diketahui dengan mengamati absorbansi mulai dari saat direaksikan hingga tercapai serapan yang stabil (Molyneux, 2004).

Panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) yang digunakan dalam pengukuran uji sampel uji sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur panjang

gelombang maksimum untuk DPPH antara 515-520 nm. Pada prakteknya hasil pengukuran yang memberikan *Peak* maksimum itulah panjang gelombangnya yaitu sekitar panjang gelombang yang disebutkan diatas. Nilai absorbansi yang mutlak tidaklah penting, karena panjang gelombang dapat diatur untuk memberikan absorbansi maksimum sesuai dengan alat yang digunakan. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi linier, sehingga memenuhi hukum Lambert-beer (Molyneux, 2004).

## **2.7 Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrofotometer Ultraviolet-Visibel (UV-Vis) merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190nm-380nm) dan sinar tampak (380nm-780nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometri serapan merupakan metode pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang diserap zat (Depkes RI, 1979). Spektrofotometri yang sering digunakan untuk mengukur serapan larutan atau zat yang diperiksa adalah spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang antara 200-400 nm dan visible (cahaya tampak) dengan panjang gelombang antara 400-800 nm (Rohman, 2007).

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer paling baik jika berada antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Tahapan-tahapan dalam penggunaan spektrofotometer adalah:

### **a. Pemilihan pelarut**

Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem terkonjugasi pada struktur molekulnya atau tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang diukur dan mempunyai kemurnian yang tinggi (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Pemilihan panjang gelombang

Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari satu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antar absorbansi (y) dengan konsentrasi (x) (Gandjar dan Rohman, 2007).

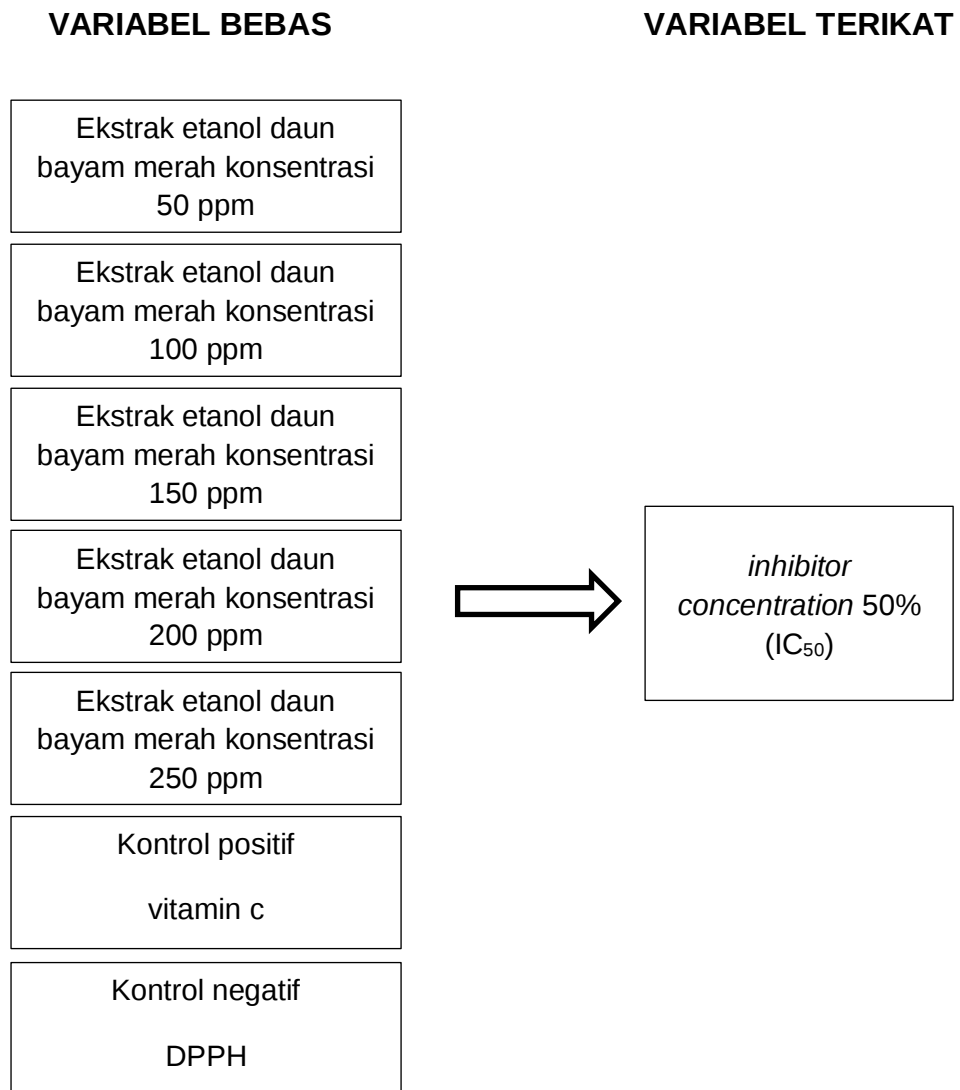
d. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer paling baik jika berada antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan (Gandjar dan Rohman, 2007).

e. Waktu operasional (Operating Time)

Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Pada saat awal terjadi reaksi, absorbansi senyawa yang berwarna ini meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak sehingga intensitas warnanya turun akibat absorbansinya juga turun (Gandjar dan Rohman, 2007).

## 2.8 Kerangka Konsep



**Gambar 2.3 Kerangka Konsep**

## 2.9 Definisi Operasional

- a) Ekstrak etanol daun bayam merah adalah daun bayam merah yang sudah dipetik dan dicuci bersih lalu dibuat simplisia dan diekstrak dengan metode maserasi memperoleh ekstrak etanol daun bayam merah.
- b) *inhibitor concentration* 50% ( $IC_{50}$ ) adalah  $IC_{50}$  merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ( $\mu\text{g/ml}$ ) yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50%.

## 2.10 Hipotesis

Ekstrak etanol bayam merah mempunyai efek Antioksidan.