

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum polycystum*) MENGUNAKAN METODE FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER (FRAP)

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF BROWN ALGAE EXTRACT (*Sargassum polycystum*) USING THE FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER (FRAP) METHOD

Disusun dan diajukan oleh

**NUR ZADILA
N011 17 1542**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT
(*Sargassum polycystum*) MENGGUNAKAN METODE FERRIC
REDUCING ANTIOXIDANT POWER (FRAP)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF BROWN ALGAE EXTRACT
(*Sargassum polycystum*) USING THE FERRIC REDUCING
ANTIOXIDANT POWER (FRAP) METHOD**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**NUR ZADILA
N011 17 1542**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT
(*Sargassum polycystum*) MENGGUNAKAN METODE FERRIC
REDUCING ANTIOXIDANT POWER (FRAP)**

NUR ZADILA

N011 17 1542

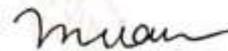
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt.
NIP. 19630801 199003 1 001

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr.rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

Pada tanggal 20 4 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT
(*Sargassum polycystum*) MENGGUNAKAN METODE FERRIC
REDUCING ANTIOXIDANT POWER (FRAP)**

Disusun dan diajukan oleh

**NUR ZADILA
N011 17 1542**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 20 1 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

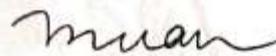
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt.
NIP. 19630801 199003 1 001

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr.rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP.19670319 199203 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Nur Zadila
NIM : N011171542
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum polycystum*) Menggunakan Metode *Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 24 2021

Yang Menyatakan

 
Nur Zadila

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis akan menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama yang memberikan banyak arahan, saran, bantuan, dan telah meluangkan waktu kepada penulis untuk diskusi dan banyak hal lainnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr.rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan arahan, saran, motivasi, bantuan dan telah meluangkan waktu kepada penulis untuk mendiskusikan hal-hal yang berkaitan dengan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. dan Bapak Prof. Subehan, M.Pharm.Sc.,Ph.D., Apt. selaku tim penguji yang telah memberikan arahan dan saran yang membangun dan membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staff dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu yang bermanfaat, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi

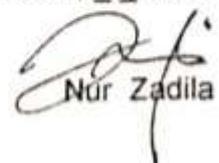
hingga menyelesaikan skripsi ini.

5. Kedua orang tua penulis, Bapak Samsul dan Ibu Jumatra. Terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala doa untuk Dila. Terima kasih telah membiayai kuliah Dila, percaya dengan Dila, membantu Dila dan tidak pernah lelah memberikan dukungan kepada Dila. Bapak dan Mama, terima kasih telah mendengarkan semua keluh-kesah Dila selama kuliah dan terus menguatkan Dila. Semoga dengan skripsi ini bisa menjadi salah satu hal yang membahagiakan Bapak dan Mama.
6. Saudara penulis, Muhammad Ridzuan, atas bantuan dan dukungan yang selalu diberikan. Abang yang selalu membantu Dila selama kuliah dan selalu ada buat Dila.
7. Seluruh keluarga penulis yang selalu memberikan dukungan selama kuliah, yang selalu menjadi tempat pulang yang paling nyaman.
8. Seluruh Asisten Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala ilmu, bantuan dan dukungannya.
9. Khansa, Zilfrida Aura Bening Azizy, Indhira Azhari Gazali, L.M. Alif Fauzan Tamar, Zainah Aura Hatifah dan A. Aulia Nurazzizah, selaku teman dekat penulis yang selalu membantu dan memberikan dukungan kepada penulis. Menjadi teman cerita dan teman belajar selama di Farmasi.
10. Keluarga besar UKM Redaksi Lege Artis yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman berorganisasi, mengajarkan banyak hal kepada penulis sebagai pers mahasiswa.

11. Teman-teman KKN Tematik 104 posko Kaltara-Kepri yang selalu memberikan bantuan dan pengalaman berharga selama KKN *online*.
12. Suhaini, Haslinda, dan Fitri Gustiyana selaku teman dekat penulis yang selalu menjadi pendengar yang baik buat penulis selama kuliah, selalu memberikan nasihat dan dukungan yang berharga.
13. Ferdiansyah, Hartono, Nurfadila, Widya, Roni, Jumalia, Icha Inas Anisa, Wendy Setyawan, Wildan Khatami, dan teman-teman yang lain yang selalu memberikan dukungan dan saran selama kuliah.
14. CLOSTR17IUM, yang selalu menjadi keluarga dan teman angkatan yang baik dan saling memberi dukungan dalam menyelesaikan studi di Farmasi dan teman berjuang bersama di Kemafar-UH.
15. Semua pihak yang telah membantu dan memberi dukungan yang tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat beberapa kesalahan dan jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penelitian selanjutnya dan pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam ilmu kefarmasian. Aamiin.

Makassar, 20 1 2020


Nur Zadila

ABSTRAK

NUR ZADILA. *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum polycystum*) Menggunakan Metode Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) (dibimbing oleh Syaharuddin Kasim dan Marianti A. Manggau).*

Antioksidan dapat menghambat agregasi platelet dan peroksidasi lipid serta berperan sebagai anti-aging atau penuaan. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) digunakan jika sampel dapat mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , seperti *Sargassum* yang mengandung senyawa polisakarida sulfat, flucoxanthin, fucoidan, dan flavonoid yang memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat menstabilkan ROS dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak alga cokelat (*Sargassum polycystum*) dengan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Aktivitas antioksidan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pembanding vitamin C dan dihitung nilai IC_{50} dari absorbansi sampel yang telah diperoleh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak alga cokelat memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 114,681 $\mu\text{g/ml}$.

Kata Kunci : Ekstrak alga cokelat, Antioksidan, FRAP, ROS, *Sargassum polycystum*.

ABSTRACT

NUR ZADILA. *Antioxidant Activity Test of Brown Algae Extract (Sargassum polycystum) Using The Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Method* (Supervised by Syaharuddin Kasim and Marianti A. Manggau).

Antioxidants can inhibit platelet aggregation and lipid peroxidation and act as antiaging. Antioxidant activity test using the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method is used if the sample can reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} , such as Sargassum which contains polysaccharide sulfate, fucoxanthin, fucoidan, and flavonoids compounds which have potential as antioxidants that can stabilize ROS by reacting with reactive compounds from radical. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of brown algae (*Sargassum polycystum*) extract using the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method. Antioxidant activity was measured using a spectrophotometer UV-Vis with ascorbic acid as standard and the IC_{50} value was calculated from the absorbance of the samples obtained. The results showed that the brown algae extract had medium antioxidant activity with an IC_{50} value of 114.681 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: Antioxidant, Brown algae extract, FRAP, ROS, *Sargassum polycystum*.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	4
I.3. Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. Alga cokelat (<i>Sargassum polycystum</i>)	5
II.1.1. Klasifikasi	5
II.1.2. Morfologi	6
II.1.3. Habitat	6
II.1.4. Kandungan kimia dan manfaat	6
II.2. Radikal bebas	7
II.3. Antioksidan	8
II.3.1. Antioksidan enzimatis	10

II.3.2. Antioksidan nonenzimatis	11
II.4. Metode uji antioksidan <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> (FRAP)	12
II.5. Spektrofotometer UV-Visible	13
BAB III METODE PENELITIAN	16
III.1. Alat dan Bahan	16
III.2. Metode Kerja	16
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	24
V.1. Kesimpulan	24
V.2. Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Tingkat kekuatan antioksidan	13
2. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak alga coklat (<i>Sargassum polycystum</i>)	21
3. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C	32
4. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat (<i>Sargassum polycystum</i>)	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Alga cokelat (<i>Sargassum polycystum</i>)	5
2. Reaksi reduksi Fe ³⁺ menjadi Fe ²⁺	12
3. Skema alat spektrofotometer UV-Vis <i>single-beam</i>	14
4. Skema alat spektrofotometer UV-Vis <i>double-beam</i>	14
5. Nilai absorbansi larutan pembanding vitamin C	35
6. Nilai absorbansi larutan sampel ekstrak alga cokelat (<i>Sargassum polycystum</i>)	36
7. Larutan stok sampel ekstrak alga cokelat (<i>Sargassum polycystum</i>)	37
8. Larutan stok pembanding (Vitamin C)	37
9. Reagen uji metode <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> (FRAP)	37
10. Larutan setelah penambahan reagen	38
11. Larutan disentrifugasi selama 10 menit	38
12. Alat spektrofotometer UV-Visible	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Uji aktivitas antioksidan dengan metode <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> (FRAP)	30
2. Hasil dan perhitungan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> (FRAP)	31
3. Hasil pengukuran absorbansi larutan pembanding vitamin C dan sampel ekstrak alga cokelat (<i>Sargassum polycystum</i>)	35

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Antioksidan memiliki banyak manfaat untuk kesehatan, terutama yang berkaitan dengan penyakit hati, ginjal, sistem pencernaan, kardiovaskular, kanker, dan gangguan neurodegeneratif seperti demensia dan penyakit Alzheimer (Wilson et al., 2017). Dalam berbagai penelitian, antioksidan disebut juga dapat menghambat agregasi platelet dan peroksidasi lipid serta berperan sebagai antiaging atau penuaan (Adegbola et al., 2017; Obrenovich et al., 2010).

Penuaan kulit merupakan salah satu kerusakan kulit yang disebabkan oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan intrinsik adalah proses fisiologis yang tidak dapat dihindarkan yang menyebabkan kulit menjadi tipis, kering, timbul kerutan halus, dan atrofi kulit bertahap, sedangkan penuaan ekstrinsik disebabkan oleh faktor lingkungan eksternal seperti polusi udara, merokok, gizi buruk, dan paparan sinar matahari yang dapat menimbulkan kerutan kasar, hilangnya elastisitas, kelemahan, dan bertekstur kasar pada kulit. Paparan radiasi sinar ultraviolet (UV) matahari dalam jangka waktu yang panjang merupakan faktor utama penuaan kulit ekstrinsik dan disebut juga sebagai *photoaging* (Zhang and Duan, 2018). Salah satu senyawa yang dapat menghambat penuaan dini pada kulit adalah Antioksidan. Antioksidan merupakan agen pereduksi yang dapat meringankan penuaan kulit dengan cara

menetralkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang sudah terbentuk. Antioksidan yang dapat digunakan seperti vitamin C, vitamin E, karotenoid, dan beberapa tanaman juga bisa digunakan sebagai sumber antioksidan alami (Masaki, 2010; Zhang and Duan, 2018).

Sejumlah besar penelitian melaporkan bahwa spesies *Sargassum* mengandung senyawa polisakarida sulfat, flucoxanthin, fucoidan, steroid, terpenoid, flavonoid dan lain-lain (Vijayan et al., 2020; Yende et al., 2014). Senyawa-senyawa tersebut menunjukkan hasil yang signifikan dalam potensi terapeutik dan dapat digunakan untuk pengobatan atau pencegahan beberapa gangguan penyakit (Vijayan et al., 2020). Hampir setiap kelompok flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan dan dapat mencegah cedera akibat radikal bebas dengan berbagai macam cara, salah satu cara adalah *scavenging* langsung dari radikal bebas. Antioksidan akan dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil dan kurang reaktif. Dengan kata lain, menstabilkan ROS dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal (Panche et al., 2016).

Dalam uji aktivitas antioksidan, metode yang umum digunakan yaitu metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), namun metode DPPH cenderung bereaksi dengan radikal lain yang terdapat dalam sampel uji. Dalam penelitian Magfira (2018), menyebutkan bahwa metode DPPH kurang sensitif dalam uji aktivitas antioksidan selain senyawa fenol (Magfira, 2018). Metode FRAP merupakan salah satu metode yang dapat digunakan karena prosedurnya

yang sederhana, murah, sensitif dan cepat. Selain itu, reagen yang digunakan juga sederhana dan tidak memerlukan alat khusus untuk menghitung kadar antioksidannya. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan dari sampel berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan dari sampel tersebut dalam mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Halvorsen et al., 2002; Maryam et al., 2016; Sadeer et al., 2020). Dalam pengujian menggunakan metode DPPH dan FRAP tentu akan memiliki hasil yang berbeda, hal tersebut dapat dipengaruhi oleh struktur kimiawi antioksidan, sumber radikal bebas dan sifat fisikokimia sampel (Maesaroh et al., 2018).

Berdasarkan penelitian Arsianti dkk. (2020), telah dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak alga cokelat (*Sargassum polycystum*) menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) atau reaksi dengan radikal bebas dengan nilai IC_{50} sebesar 298,32 $\mu\text{g/mL}$ yang memiliki aktivitas antioksidan lemah (Arsianti et al., 2020).

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak alga cokelat (*Sargassum polycystum*). Ekstrak diperoleh dari penelitian sebelumnya dan akan dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Penelitian ini juga dapat mendukung dan memperkuat penelitian sebelumnya yang telah menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak alga cokelat (*Sargassum polycystum*) menggunakan metode DPPH.

I.2 Rumusan masalah

Apakah ekstrak alga cokelat (*Sargassum polycystum*) memiliki aktivitas antioksidan?

I.3 Tujuan penelitian

Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak alga cokelat (*Sargassum polycystum*) dengan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Alga Cokelat (*Sargassum polycystum*)

II.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi dari alga Cokelat (*Sargassum polycystum*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Chromista
Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum polycystum</i> (Arsianti et al., 2019)



Gambar 1. Alga cokelat (*Sargassum polycystum*) (Arsianti et al., 2019)

II.1.2 Morfologi

Alga cokelat (*Sargassum polycystum*) memiliki thallus dengan ukuran bervariasi dari 10 cm hingga 1,5 m, *holdfast* diskoidal atau konikal, sumbu utama berbentuk silinder dan berkulit, menopang hingga 10 cabang seperti stolon dengan panjang 0,5–1 cm, cabang seperti stolon berbentuk silindris atau pipih, halus atau dengan sedikit duri. Sumbu sekunder silindris, berbelok dan mengandung banyak tonjolan seperti tulang belakang berbentuk "y", dengan diameter hingga 0,2 cm. Daun berbentuk linier hingga lanset atau lonjong dan lurus dengan ujung tumpul, tepi bergerigi tidak teratur, tangkai daun pendek, kriptostomata kecil, melimpah dan tersebar tidak beraturan di permukaan daun, panjang sampai 3 cm dan lebar 0,8 cm. Vesikula berbentuk bulat atau agak lonjong, licin atau bantalan kriptostomata menonjol dengan diameter hingga 0,25 cm, tangkai daun berbentuk silinder dan lebih pendek dari vesikula (Yudianti et al., 2018).

II.1.3 Habitat

Persebaran alga cokelat (*Sargassum polycystum*) telah mendunia, terutama pada kawasan Indo-Pasifik dan hidup di dangkal dataran terumbu dan habitat dasar berbatu (Yudianti et al., 2018).

II.1.4 Kandungan kimia dan manfaat

Memiliki kandungan senyawa kimia yaitu flavonoid, steroid, tannin, triterpenoid dan glikosida. Alga cokelat (*Sargassum polycystum*) memiliki potensi sebagai terapi antikanker dan antioksidan (Arsianti et al., 2019).

II.2 Radikal Bebas

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tak berpasangan. Radikal bebas yang memiliki jumlah elektron ganjil dari membuatnya tidak stabil dan sangat reaktif. Reaktivitasnya yang tinggi membuat molekul tersebut mengambil elektron dari senyawa lain agar menjadi stabil. Jadi, molekul yang diserang akan kehilangan elektron dan menjadi radikal bebas, memulai rangkaian reaksi berantai yang akhirnya merusak sel hidup (Phaniendra et al., 2015). Radikal bebas terpenting yang dihasilkan selama reaksi metabolisme adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). ROS dan RNS dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok yaitu radikal dan non-radikal. Contoh radikal yaitu Superoksida (O_2^{\bullet}), Radikal oksigen ($O_2^{\bullet\bullet}$), Hidroksil (OH^{\bullet}), Alkoksiradikal (RO^{\bullet}), radikal Peroksil (ROO^{\bullet}), Nitrit oksida (nitrogen monoksida) (NO^{\bullet}) dan nitrogen dioksida (NO_2^{\bullet}). Reaktivitas yang tinggi dari radikal-radikal ini disebabkan oleh adanya satu elektron tidak berpasangan yang cenderung mendonasikan atau mendapatkan elektron lain untuk mencapai stabilitas. Sedangkan contoh non-radikal yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2), asam hipoklorit ($HOCl$), asam hipobromosa ($HOBr$), ozon (O_3), anion nitroksil (NO^-), dan peroksida organik ($ROOH$). Spesies non-radikal bukan merupakan radikal bebas tetapi dapat dengan mudah bereaksi dengan radikal sehingga terbentuk radikal bebas baru pada organisme hidup (Halliwell, 2005; Phaniendra et al., 2015).

ROS atau RNS memiliki peran ganda sebagai senyawa yang bermanfaat dan beracun bagi tubuh. Pada tingkat yang sedang atau rendah ROS atau RNS dapat memberikan efek yang menguntungkan dan terlibat dalam berbagai fungsi fisiologis seperti fungsi kekebalan tubuh. Namun, ROS atau RNS pada konsentrasi yang lebih tinggi dapat menghasilkan stres oksidatif dan stres nitrosatif yang menyebabkan potensi kerusakan biomolekul. Stres oksidatif dan stres nitrosatif dapat terjadi apabila produksi ROS dan RNS berlebih tetapi di sisi lain terdapat kekurangan antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Kerusakan biomolekul seperti lipid, protein dan DNA dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes mellitus, artritis reumatoid, penyakit kardiovaskular, penyakit pernapasan serta proses penuaan (Phaniendra et al., 2015).

Radikal bebas dapat bersumber dari dalam tubuh atau endogen dan luar tubuh (eksogen). Contoh sumber endogen seperti mitokondria, peroksisom dan retikulum endoplasma, sedangkan sumber eksogen yaitu polusi udara, merokok, paparan sinar matahari, pestisida, dan sebagainya (Phaniendra et al., 2015).

II.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi yang membentuk radikal bebas sehingga menimbulkan reaksi berantai yang dapat merusak sel makhluk hidup. Antioksidan dapat mengakhiri reaksi berantai ini. Antioksidan juga didefinisikan sebagai

senyawa yang mampu menghilangkan ROS atau RNS secara langsung maupun tidak langsung yang bertindak sebagai pengatur pertahanan antioksidan atau penghambat produksi spesies reaktif. Antioksidan memiliki fungsi yang dapat diklasifikasikan dengan pertahanan yang berbeda dan sesuai dengan mekanisme kerjanya yaitu sebagai agen pencegahan yang dapat menekan pembentukan radikal baru (meliputi enzim, seperti superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), dan glutathione peroxidase (GPX), protein yang mengikat logam seperti feritin dan ceruloplasmin, mineral seperti selenium (Se), tembaga (Cu), dan seng (Zn)), agen pembersih radikal yang menghambat inisiasi rantai atau perbanyakkan radikal yang meliputi glutathione, albumin, vitamin C dan E, karotenoid, dan flavonoid, sebagai perbaikan dan enzim de novo yang memperbaiki dan menyusun kembali membran sel yang meliputi lipase, protease, enzim perbaikan DNA, transferase, dan reduktase metionin-sulfoksida, dan sebagai agen adaptasi yang menghasilkan enzim antioksidan yang sesuai dan mentransfernya ke tempat kerja yang penting (Lawenda et al., 2008; Mut-Salud et al., 2016; Salehi et al., 2018).

Pertahanan antioksidan alami terdiri dari antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen terbagi menjadi dua yaitu enzimatik dan nonenzimatik yang diproduksi di dalam tubuh manusia, sedangkan antioksidan eksogen berasal dari luar tubuh yang dapat diperoleh melalui makanan atau suplemen nutrisi (Mut-Salud et al., 2016).

II.3.1 Antioksidan enzimatis

Untuk mempertahankan pensinyalan sel yang tepat, sejumlah enzim penangkap radikal mempertahankan konsentrasi ambang ROS di dalam sel. Apabila konsentrasi ROS melebihi ambang batas ini maka dapat menyebabkan sinyal yang berlebihan ke sel. Konsentrasi ROS harus dikontrol oleh beberapa mekanisme pertahanan yang melibatkan sejumlah enzim antioksidan dan detoksifikasi. Terdapat tiga kelas utama enzim antioksidan di semua sel tubuh yaitu *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), dan *glutathione peroxidase* (GPX) yang memiliki peran penting dalam mempertahankan homeostasis ke dalam sel (Adwas et al., 2019).

SOD merupakan enzim detoksifikasi paling penting dan paling kuat di dalam sel. SOD adalah metaloenzim sehingga membutuhkan logam sebagai kofaktor untuk aktivitasnya. SOD memiliki peran dalam reaksi pelepasan O_2 menjadi H_2O_2 dan dalam reaksi selanjutnya dikatalisis oleh katalase atau oleh GPx untuk diubah menjadi H_2O dan O_2 . CAT menggunakan besi atau mangan sebagai kofaktor dan mengkatalisis degradasi atau reduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) untuk menghasilkan air dan molekul oksigen sehingga menyelesaikan proses detoksifikasi yang berawal dari SOD. CAT sangat efisien dalam memecah jutaan molekul H_2O_2 dalam waktu yang singkat. CAT dapat ditemukan di peroksisom, dan memiliki peran utama yaitu menghilangkan H_2O_2 yang dihasilkan selama oksidasi asam lemak. Sedangkan GPx merupakan enzim intraseluler yang

memecah H_2O_2 dalam air dan peroksida lipid dalam alkohol yang sesuai, hal ini terjadi terutama di mitokondria dan terkadang di sitosol. GPx bergantung pada selenium dalam aktivitasnya. Pada manusia, setidaknya terdapat delapan enzim GPx yaitu GPx1 hingga GPx8 dan di antara semuanya, GPx1 adalah selenoperoksidase yang paling melimpah dan ada di hampir semua sel. Enzim memainkan peran penting dalam menghambat proses peroksidasi lipid, oleh karena itu dapat melindungi sel dari stres oksidatif (Francenia Santos-Sánchez et al., 2019).

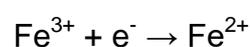
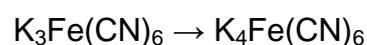
II.3.2 Antioksidan nonenzimatis

Antioksidan nonenzimatis memiliki peran dalam pertahanan pertama termasuk antioksidan pencegahan dan dalam plasma darah terdapat ceruloplasmin, ferritin, transferin dan albumin. Protein ini menghambat pembentukan spesies reaktif baru dengan mengikat ion logam transisi (misalnya besi dan tembaga). Metalothionein juga berperan penting dalam pencegahan terhadap spesies reaktif. Sifat antioksidan utamanya muncul dari keberadaan sejumlah besar kelompok -SH. Pertahanan kedua melawan ROS melibatkan antioksidan nonenzimatis yang diwakili oleh molekul yang memiliki kemampuan dengan cepat menonaktifkan radikal dan oksidan. Antioksidan makanan seperti vitamin E, vitamin C, karotenoid, beberapa mineral dan polifenol seperti flavonoid dan asam fenolik dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan endogen. Antioksidan endogen dan eksogen dapat bekerja secara sinergis untuk membangun kembali atau mempertahankan homeostasis redoks. Contoh

antioksidan non-enzimatis yaitu protein pengikat logam, glutathione (GSH), asam urat, melatonin, dan bilirubin (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

II.4 Metode Uji Aktivitas Antioksidan *Ferric Reducing Antioxidant Power*

Umumnya, pengukuran antioksidan menggunakan metode kompleks dan menggunakan banyak bahan kimia dan cukup mahal. Salah satu metode untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) yang memiliki beberapa keuntungan yaitu metodenya yang sederhana, cepat, murah, sensitif, tidak menggunakan banyak reagen dan tidak memerlukan instrumen khusus untuk menghitung total senyawa antioksidannya (Kurniawati et al., 2017; Maryam et al., 2016; Sadeer et al., 2020). Metode uji FRAP memiliki prinsip dengan mengukur kemampuan dari senyawa antioksidan untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Jadi, senyawa yang memiliki potesi reduksi atau sebagai antioksidan akan bereaksi dengan kalium ferrisianida dan membentuk kalium ferrosianida, kemudian akan bereaksi dengan besi klorida dan membentuk kompleks ferri-ferro yang memiliki daya absorbansi pada panjang gelombang maksimum 700 nm (Halvorsen et al., 2002; Jayanthi and Lalitha, 2011; Kurniawati et al., 2017).



Gambar 2. Reaksi reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Kurniawati et al., 2017)

Setelah dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis, maka dihitung persamaan garis linear agar bisa menentukan nilai IC_{50} atau jumlah konsentrasi senyawa antioksidan dari sampel yang dapat mereduksi radikal bebas sebanyak 50% (Haryoto and Frista, 2019). Semakin rendah nilai IC_{50} berarti menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Tingkat kekuatan antioksidan terbagi menjadi 4 kategori seperti yang tertera pada tabel di bawah (Kusmardiyani et al., 2016):

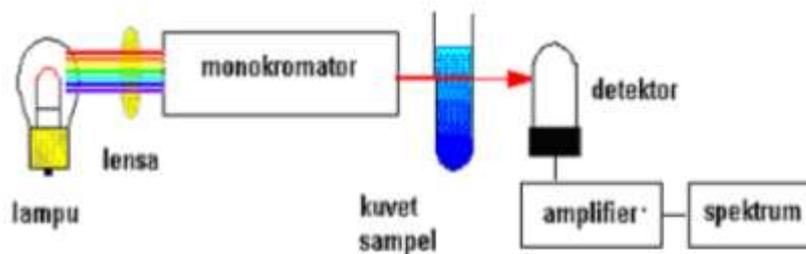
Tabel 1. Tingkat kekuatan antioksidan (Kusmardiyani et al., 2016)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat Kuat	< 50 $\mu\text{g/ml}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/ml}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g/ml}$
Lemah	50 >150 $\mu\text{g/ml}$

II.5 Spektrofotometer UV-Visible

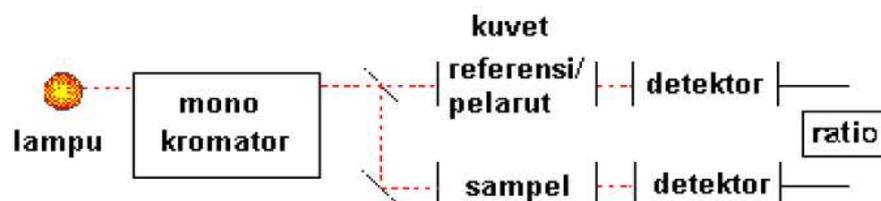
Salah satu teknik analisis spektroskopi adalah Spektrofotometer UV-Visible yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dan cahaya tampak dengan instrumen spektrofotometer (Noviyanto, 2020). Spektrofotometer UV-Visible akan mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap atau diabsorpsi oleh sampel (Dachriyanus, 2004). Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi IV, spektrofotometri merupakan pengukuran dari interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat. Jangkauan panjang gelombang ultraviolet adalah 190 nm hingga 380 nm dan cahaya tampak adalah 380 nm hingga 780 nm (Depkes RI, 1995).

Alat spektrofotometer UV-Visible yang memiliki sumber cahaya tunggal atau biasa disebut *single beam*, sinyal pelarut dihilangkan terlebih dahulu dengan mengukur pelarut tanpa sampel dan selanjutnya larutan sampel bisa diukur (Dachriyanus, 2004).



Gambar 3. Skema alat spektrofotometer UV-Vis *single-beam* (Dachriyanus, 2004)

Sedangkan alat spektrofotometer UV-Visible yang memiliki sumber cahaya ganda atau biasa disebut *double beam* merupakan alat yang lebih praktis dan hasilnya optimal, larutan sampel dapat dimasukkan secara bersama dengan larutan yang tidak mengandung sampel (Dachriyanus, 2004).



Gambar 4. Skema alat spektrofotometer UV-Vis *double-beam* (Dachriyanus, 2004)

Secara umum, spektrofotometer UV-Visible meliputi komponen-komponen sebagai berikut, yaitu (Marzuki, 2017):

1. Sumber-sumber lampu, pada panjang gelombang 190-350 nm digunakan lampu deuterium untuk daerah UV, sedangkan pada

panjang gelombang 350-900 nm digunakan lampu halogen, kuarsa atau lampu tungsten untuk daerah *visible*.

2. Monokromator, berfungsi untuk mendispersikan cahaya ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya, kemudian akan dipilih oleh celah atau *slit*. Monokromator akan berputar sehingga panjang gelombang dengan kisaran tertentu akan dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.
3. Optik-optik, berfungsi untuk memecah sumber cahaya sehingga sumber cahaya dapat melewati dua kompartemen.