

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Gelinggang (*Cassia alata* L.)

2.1.1. Morfologi

Daun ketepeng cina (*Cassia alata*. L) berbentuk jorong sampai bulat telur sungsang, merupakan daun majemuk menyirip genap yang berpasangan sebanyak 5 – 12 baris, mempunyai anak daun yang kaku dengan panjang 5 – 15 cm, lebar 2,5 – 9 cm, ujung daunnya tumpul dengan pangkal daun runcing serta tepi daun rata. Pertulangan daunnya menyirip dengan tangkai anak daun yang pendek dengan panjang \pm 2 cm dan berwarna hijau, daun ketepeng tidak berbau dan rasanya kelat. Buah ketepeng cina (*Cassia alata* L.) berupa polong-polongan yang gepeng panjang persegi empat dengan panjang \pm 18 cm dan lebar \pm 2,5 cm berwarna hitam. Di samping itu, buah Ketepeng cina juga mempunyai sayap pada kedua sisinya dengan panjang 10 – 20 mm dan lebar 12 – 15 mm. Jika buah tersebut masak, maka pada kedua sisinya akan membuka atau pecah sehingga biji yang terdapat di dalam polong akan terlempar keluar. Biji yang dimiliki ketepeng cina (*Cassia alata*. L) berbentuk segitiga lancip dan berbentuk pipih yang berjumlah 50 – 70 biji pada setiap polongnya (Hujjatusnaini, 2008).



Gambar 2.1. Tumbuhan Gelinggang (Trisiani, 2015).

2.1.2. Klasifikasi

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Resales
Famili	: Leguminosae
Genus	: Cassia
Spesies	: (<i>Cassia alata</i> L.) (Steenis, 2008).

2.1.3. Nama Lain

Nama lain dari daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) antara lain: Gelanggang (Kalimantan Selatan); ketepeng kebo; ketepeng cina (Jawa); ketepeng badak, ki manila (Sunda); daun ketepeng daunkurap, gelenggang ketepeng kupang-kupang (Manado); ancon–anconan (Madura); sajamera (Halmahera); kupang- kupang (Ternate); tabunkun (Tidore); gelanggang uru'kap (Sumatera) (Putri, 2016).

2.1.4. Kandungan Kimia

Kandungan kimia dari daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) adalah alkaloida, saponin, flavanoida, tanin dan antraknon (Kusmardi *et al.*, 2007). Selain itu, Gelinggang juga mengandung senyawa lain seperti steroid, terpenoid, dan karbohidrat (Timothy, 2012), ditambah dengan kandungan Rein aloe-emodina, Rein aloe-emodina-diantron dan Asam Krisofanat.

2.1.5. Manfaat

Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) banyak dimanfaatkan secara tradisional, antara lain adalah sebagai antiparasit, laksan, kurap, kudis, panu, eksem, malaria, sembelit, radang kulit bertukak, sifilis, herpes, influenza dan bronchitis (Kusmardi, 2007). Selain itu, Gelinggang (*Cassia alata* L.) juga dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat

bisul, obat infeksi kulit, untuk mempercepat penyembuhan luka, serta untuk menyehatkan dan merawat kulit.

2.1.6. Penelitian

Menurut penelitian Chatterjee *et al.*,(2013), daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) memiliki nilai penarikan DPPH yang tinggi ($IC_{50}=54 \pm 2.20$) sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan, sedang menurut penelitian Gama *et al.*,(2011), Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) juga berfungsi sebagai antijamur dengan konsentrasi 50% (sebanding dengan ketokonazol 2%) dalam menghambat pertumbuhan *Malassezia furfur* pada *Pityriasis versicolor* secara *in vitro*. Selain antioksidan dan antijamur, penelitian Kurniawan dan Aryana (2015) menyebutkan bahwa Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) juga memiliki khasiat sebagai antibakteri (dengan minimal konsentrasi 1000 ppm) dapat dijadikan obat alami dari penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E.colli*.

2.2. Tumbuhan Lucung (*Etlintera elatior*)

2.2.1. Morfologi

Tanaman ini merupakan tanaman herbal yang batangnya tumbuh tegak dan tumbuh jarang-jarang dengan yang lainnya. Tinggi kecombrang bias mencapai 5 m dan tumbuh di semak-semak. Struktur batangnya yaitu semu, tegak, berpelepah dan berbentuk rimpang hijau. Sedangkan bentuk daunnya yaitu tunggal, ujung pangkal runcing dan tepi rata dengan panjang 20-30 cm dan lebar 5-15 cm. Tulang daunnya menyirip serta permukaan daun yang licin. Bunganya terdapat di ujung batang dengan dengan mahkota yang bertaju, warnanya merah dan merah muda, serta benang sari dengan panjang 7,5 cm dan putik yang kecil. Tanaman ini juga memiliki biji yang berwarna coklat dan kecil. Akarnya serabut dengan warna coklat (Alfaruqi, 2015).



Gambar 2.2. Tambuhan Lucung
(sumber : <https://id.wikipedia.org/wiki/Kecombrang>)

2.2.2. Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub Kelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Etlingera
Spesies	: <i>Etlingera elatior</i> (Jack) (Alfaruqi, 2015)

2.2.3. Nama Lain

Nama lain dari Kecombrang (*Etlingera elatior*) adalah Kincung (Medan); Kincuang dan Sambuang (Minangkabau); Kecicang (Bali); Siantan

(Malaya); Daalaa (Thailand). Nama-nama sinonim sebelumnya yang digunakan seperti *Nicolaia elatior* (Jack) Horan, *Phaeomeria magnifika* (Roscoe) K.Schum, *Elettaria speciosa* Blume, *Alpinia magnifica* Roscoe, atau *Alpinia elatior* Jack (Dwiatmini *et al.*, 2009).

2.2.4. Kandungan Kimia

Bunga Lucung atau disebut juga Bunga Patikala (*Etilingera elatior*) yang diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan minyak atsiri yang diduga memiliki potensi sebagai antioksidan (Akbar, 2008). Selain itu, Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) juga memiliki kandungan gizi pada diantaranya air, fosfor, karbohidrat, kalium, protein, kalsium, lemak, seng dan juga zat besi.

2.2.5. Manfaat

Bunga Lucung (*Etilingera elatior*) banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional contohnya untuk penyakit demam dan beberapa penyakit kulit. Tumbuhan ini juga dapat digunakan sebagai sabun alami karena dapat menghilangkan bau badan. Selain itu, Bunga Lucung (*Etilingera elatior*) juga digunakan sebagai hiasan, pemberi citarasa pada makanan seperti urab, pecel, sambel dan masakan lain (Hudaya, 2010).

2.2.6. Penelitian

Bunga Lucung (*Etilingera elatior*) dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan serta bahan obat untuk penyakit yang berkaitan dengan kulit, batang semu serta pelepah daun dapat dimanfaatkan sebagai sabun alami serta memiliki khasiat sebagai antimikroba pada mikroba pathogen dan perusak pangan (Handayani *et al.*, 2014). Menurut penelitian Handayani (2014), bunga Patikala (*Etilingera elatior*) memiliki aktivitas antioksidan sebesar $IC_{50}=101,84 \mu\text{g/mL}$ sehingga dapat pula dimanfaatkan menjadi antioksidan.

2.3. Ekstraksi

2.3.1. Simplisia

2.3.1.1. Definisi

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (BPOM, 2008).

2.3.1.2. Jenis

Jenis-jenis simplisia antara lain:

- a. Simplisia nabati, yaitu simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan antara ketiganya.
- b. Simplisia hewani, yaitu simplisia berupa hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni.
- c. Simplisia pelikan (mineral), yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Anggraini, 2008).

2.3.1.3. Tahapan Pembuatan

Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan, yaitu:

- a. Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda yang tergantung pada beberapa faktor, antara lain: bagian tumbuhan yang digunakan, umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada saat panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tumbuhan yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tumbuhan tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar.

Senyawa aktif akan terbentuk secara maksimal di dalam bagian tumbuhan atau tumbuhan pada umur tertentu.

b. Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap tanah atau kerikil, rumput-rumputan, bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan, dan bagian tanaman yang rusak (dimakan ulat atau sebagainya).

c. Pencucian

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat pada bagian tumbuhan, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar pestisida. Cara sortasi basah dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba.

d. Pengubahan bentuk

Pada dasarnya tujuan pengubahan bentuk simplisia adalah untuk memperluas permukaan bahan baku. Semakin luas permukaan maka bahan baku akan semakin cepat kering. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki.

e. Pengeringan

Proses pengeringan simplisia, terutama bertujuan sebagai berikut: menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif,

memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama dan sebagainya).

f. Sortasi kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak.

g. Pengepakan dan penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya (Gunawan, 2010).

2.3.2. Ekstraksi

2.3.2.1. Definisi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan ataupun hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Tiap-tiap bahan mentah obat disebut ekstrak, tidak mengandung hanya satu unsur saja tetapi berbagai unsur, tergantung pada obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Sismaini, 2010).

2.3.2.2. Metode Ekstraksi

a. Cara Dingin

1) Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Mukhriani, 2014). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan

antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan.

Maserasi dapat dilakukan modifikasi, antara lain :

- a) Digesti, yaitu maserasi dengan pemanasan rendah yaitu pada suhu 40-50°C.
- b) Maserasi dengan mesin pengaduk, yaitu penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus menerus.
- c) Remaserasi, yaitu penyarian kembali setelah penyarian pertama selesai.
- d) Maserasi melingkar, yaitu penyarian dengan penyari yang selalu bergerak.
- e) Maserasi melingkar bertingkat.

Kerugian dari metode maserasi antara lain:

- (1) Memakan banyak waktu pelarut yang digunakan cukup banyak
- (2) Besar kemungkinan beberapa senyawa hilang
- (3) Beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar

Sedang keuntungan dari metode maserasi adalah:

- (1) Lebih praktis karena peralatannya sederhana
- (2) Dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014)

2) Perkolasi

Cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat (marc) telah terpisah dari ekstrak. Kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama

proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien (Sutriani, 2008).

b. Cara panas

1) Metode refluks

Metode refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Proses ini berlangsung secara berkesinambungan dan biasanya dilakukan 3 kali dalam waktu 4 jam. Prinsip kerja pada metode refluks yaitu penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna (Akhyar, 2010).

2) Metode destilasi uap

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

3) Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah

kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

4) Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air, bejana infuse tercelup dalam penangas air mendidih dengan temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Istiqomah, 2013).

2.3.3. Pelarut

2.3.3.1. Definisi

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas, yang menghasilkan sebuah larutan (Fessenden, 2009).

2.3.3.2. Jenis Pelarut

Berkaitan dengan polaritas dari pelarut, menurut Fessenden (2009), terdapat tiga golongan pelarut yaitu:

a. Pelarut polar

Memiliki tingkat kepolaran yang tinggi, cocok untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang polar dari tanaman. Pelarut polar cenderung universal digunakan karena biasanya walaupun polar, tetap dapat menyari senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah.

b. Pelarut semipolar

Pelarut semipolar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik untuk mendapatkan senyawa-senyawa semipolar dari tumbuhan.

c. Pelarut nonpolar

Pelarut nonpolar, hampir sama sekali tidak polar. Pelarut ini baik untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar. Senyawa ini baik untuk mengekstrak berbagai jenis minyak.

2.3.3.3. Macam-macam Pelarut

Macam pelarut menurut kepolarnya antara lain air, metanol, etanol dan asam asetat (pelarut polar), aseton, etil asetat, dan kloroform (pelarut semipolar), serta heksana dan eter (pelarut non polar) (Fessenden, 2009).

2.4. Sabun

2.4.1. Definisi

Sabun adalah bahan yang digunakan untuk mencuci dan mengemulsi, terdiri dari dua komponen utama yaitu asam lemak dengan rantai karbon C16 dan sodium atau potasium. Sabun merupakan pembersih yang dibuat dengan reaksi kimia antara kalium atau natrium dengan asam lemak dari minyak nabati atau lemak hewani. Sabun yang dibuat dengan NaOH dikenal dengan sabun keras (*hard soap*), sedangkan sabun yang dibuat dengan KOH dikenal dengan sabun lunak (*soft soap*). Sabun dibuat dengan dua cara yaitu proses saponifikasi dan proses netralisasi minyak. Proses saponifikasi minyak akan memperoleh produk sampingan yaitu gliserol, sedangkan proses netralisasi tidak akan memperoleh gliserol. Proses saponifikasi terjadi karena reaksi antara trigliserida dengan alkali, sedangkan proses netralisasi terjadi karena reaksi asam lemak bebas dengan alkali (Qisti, 2009).

2.4.2. Komposisi Sabun

2.4.2.1. Lemak dan Minyak

Lemak dan minyak merupakan bahan dasar pembuatan sabun, dimana asam lemak yang bereaksi dengan basa akan menghasilkan gliserin dan sabun, yang dikenal dengan proses

saponifikasi. Perbedaan mendasar pada lemak dan minyak adalah pada bentuk fisiknya, lemak berbentuk padatan, sedangkan minyak berbentuk cairan (Barel *et al.*, 2009).

2.4.2.2. Basa

Peran dari basa adalah sebagai agen pereaksi dengan fase minyak sehingga akan terjadi proses saponifikasi. Dengan adanya reaksi antara fase minyak dan basa, maka akan terbentuk gliserol dan sabun, yang berupa garam Natrium dan Kalium (Barel *et al.*, 2009).

2.4.2.3. Bahan aditif

Bahan aditif atau bahan tambahan berguna untuk meningkatkan minat konsumen terhadap produk sabun. Berikut merupakan bahan tambahan yang biasa digunakan dalam formulasi sabun antara lain :*fragrance*, pengawet, kondisioner kulit dan surfaktan sintetik (Barel *et al.*, 2009).

2.4.3. Formulasi Sabun Cair

Tabel 2.1 Formulasi Sediaan Sabun Cair

No	Nama Bahan	Komposisi		
		F1	F2	F3
1	Ekstrak Gelinggang dan Lucung	5%	10%	15%
2	Minyak Kelapa	18,75 ml	18,75 ml	18,75 ml
3	Minyak Zaitun	6,25 ml	6,25 ml	6,25 ml
4	KOH	16 ml	16 ml	16 ml
5	As. Salisilat	1 gram	1 gram	1 gram
6	As Sitrat	0,5 gram	0,5 gram	0,5 gram
7	Aquadest ad	100 ml	100 ml	100 ml

Keterangan :

F1 : Formula sabun cair ekstrak Gelinggang dan Lucung 5 %

F2 : Formula sabun cair ekstrak Gelinggang dan Lucung 10 %

F3 : Formula sabun cair ekstrak Gelinggang dan Lucung 15 %

2.5. Antioksidan

2.5.1. Definisi

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi (Tejada dan Sureda, 2014).

2.5.2. Penggolongan Antioksidan

2.5.2.1. Berdasarkan Mekanisme Kerja.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi tiga golongan yaitu:

- a. Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogenus atau antioksidan enzimatis. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas, dengan cara memutus reaksi berantai, kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan dalam kelompok ini disebut juga *chain-breaking-antioxidant* (Winarsi, 2007).
- b. Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau antioksidan non-enzimatis. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya sehingga radikal

bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler (Winarsi, 2007).

- c. Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas (Winarsi, 2007).

2.5.2.2. Berdasarkan Sumber

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu:

- a. Antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alam)
- b. Antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis senyawa kimia) (Ulfa, 2016).

2.5.3. Uji Aktivitas Antioksidan

2.5.3.1. Macam Uji Antioksidan

a. Uji DPPH

Metode DPPH merupakan salah satu metode aktivitas antioksidan yang sederhana dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebagai senyawa pendeteksi (Miller *et al.*, 2000 ; Yulia, 2007). 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil adalah senyawa radikal bebas yang stabil yang dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Simanjuntak *et al.*, 2004 ; Yulia, 2007). Radikal DPPH merupakan chromogen (memiliki warna) yang dapat menyerap kuat sinar pada panjang gelombang antara 515 dan 528 nm. Saat radikal DPPH bertemu dengan senyawa yang mudah untuk menyumbangkan elektron, seperti antioksidan, maka akan bereaksi dan berubah menjadi senyawa diphenylpicrylhydrazine yang berwarna kuning pucat. Disaat yang sama, absorbansinya pada panjang gelombang antara 515 dan 528 nm juga akan berkurang akibat hilangnya sinyal resonansi paramagnetic dari electron atau Electron

Paramagnetic Resonance (EPR) radikal bebas. Pengurangan absorbansi itu linear dengan pengurangan jumlah radikal bebas yang distabilkan oleh antioksidan, dan pengurangan absorbansi itu diukur dengan menggunakan Spektrofotometer. Larutan stok DPPH mudah bereaksi dengan cahaya dan oksigen, sehingga dapat mengalami degradasi. Untuk menghindari atau meminimalisir hal tersebut, maka larutan stok harus ditutup dengan aluminium foil dan disimpan di tempat yang gelap, dengan begitu larutan stok DPPH dapat bertahan hingga 1 minggu. Kelebihan dari uji DPPH adalah metode uji pengukuran kapasitas antioksidan yang dilakukan sederhana, cepat dan murah (Yulia, 2007).

b. Uji ABTS

Prinsip uji ABTS adalah penghilangan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan radikal kation ABTS. ABTS adalah suatu radikal dengan pusat nitrogen yang mempunyai karakteristik warna biru-hijau, yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi bentuk nonradikal, dari berwarna menjadi tidak berwarna. Kemampuan aktivitas antioksidan secara spektrofotometer pada panjang gelombang 734. Hasilnya dibandingkan dengan standar yakni senyawa trolox (Yu, 2008; Bendra, 2012).

c. Uji TRAP

Pengujian TRAP atau Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter bekerja berdasarkan pengukuran konsumsi oksigen selama reaksi oksidasi lipid terkontrol yang diinduksi oleh dekomposisi termal dari AAPH (2,2'-Azobis(2-aminidopropana)hidroklorida) untuk mengukur total aktivitas antioksidan. Hasil uji ini diekspresikan sebagai jumlah (dalam mikromol) radikal peroksil yang terperangkap oleh 1 liter

plasma. Pengukuran serum TRAP berdasarkan penentuan lamanya waktu yang diperlukan oleh serum uji untuk dapat bertahan dari oksidasi buatan.

d. Uji FRAP

Benzie & Strain, 1996 ; Maryam, 2016 mengemukakan bahwa metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagenya mudah disiapkan dan cukup sederhana dan cepat. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Maryam, 2016).