

1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Antioksidan secara kimia diartikan sebagai senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, antioksidan diartikan sebagai senyawa yang mampu menangkal atau meredam radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang memiliki sifat oksidan (mengandung radikal bebas) sehingga aktivitasnya dapat di hambat Winarti, 2010 dalam Sayuti (2015). Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan karena dapat menangkap molekul radikal bebas sehingga menghambat reaksi oksidatif dalam tubuh, yang merupakan penyebab dari berbagai penyakit.

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi 2 jenis, yaitu antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami bersumber dari tumbuh-tumbuhan, sayur-sayuran dan buah-buahan. Antioksidan sintetik yaitu butyl hidroksilanisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), propilgallat, dan etoksiquin Antioksidan juga dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Contoh antioksidan enzimatis adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (Sayuti, 2015). Contoh antioksidan non enzimatis adalah antioksidan larut air (polar) dan larut lemak (non polar). Contoh-contoh antioksidan polar adalah vitamin C, zat-zat logam, dan polifenol. Lalu, contoh dari antioksidan non polar adalah vitamin E atau tokoferol, flavonoid, dan karotenoid (Sayuti, 2015).

Ada dua macam pengukuran nilai antioksidan yaitu, nilai aktivitas antioksidan dan nilai total antioksidan. Perbedaan jenis pengukuran tersebut juga diuji dengan metode yang berbeda juga. Nilai aktivitas antioksidan biasanya diuji dengan metode DPPH (2,2-diphenyl picrylhydrazyl), CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*), FIC (*Ferrous Ion Chelating*) dan ABTS (2,2'-Azinobis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt). Sedangkan, nilai total antioksidan diuji dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan Fosfomolibdate. Dalam review yang dilakukan oleh Meilinawati (2020), dikatakan jika metode DPPH, CUPRAC dan FRAP merupakan metode yang cukup efektif dalam kemampuannya menguji nilai antioksidan pada suatu bahan.

Validitas berasal dari kata *validity* yang berarti sejauh mana ketepatan dan kecermatan suatu alat ukur dalam melakukan fungsi ukurannya. Tingkat validitas pada suatu metode harus diuji agar metode analisis yang digunakan dapat menghasilkan hasil yang optimal. Selain itu, metode analisis perlu divalidasi untuk memastikan bahwa metode analisis dapat digunakan dengan tepat sesuai dengan tujuan (Arikalang, 2018). Menurut Julizan (2019), tingkat validitas data dihasilkan dari proses uji validasi dan hasil tersebut difungsikan sebagai langkah jaminan mutu dari metode uji tersebut. Uji parameter validasi yang biasanya dilakukan adalah uji linearitas dan presisi. Linearitas dihitung berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standar yang didapatkan (Suhaili, 2018). Linearitas adalah kemampuan suatu metode analisis dalam memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Hasil uji linearitas dinyatakan dalam nilai r (koefisien korelasi) dan R^2 (koefisien determinasi). Menurut Yefrida (2019), Nilai r (koefisien korelasi) dan R^2 (koefisien determinasi) yang mendekati 1 berarti metode yang digunakan memiliki linearitas yang baik sehingga sampel yang digunakan cocok dengan metode yang ingin dilakukan. Validitas suatu metode juga dapat dilihat dari hasil uji presisi yang ditunjukkan dengan nilai RSD. Presisi merupakan derajat kesesuaian diantara masing-masing uji. Hasil uji presisi ditunjukkan dengan nilai standar deviasi yang dihasilkan (Julizan, 2019). Menurut Harmita (2004), nilai simpangan baku relatif (RSD) $< 2\%$ menunjukkan bahwa metode tersebut memiliki tingkat presisi yang tinggi dan dapat diterima dengan baik. Uji linearitas juga dapat dijadikan parameter apakah suatu metode memiliki tingkat validitas yang baik ketika digunakan untuk menguji nilai aktivitas dan total antioksidan suatu sampel. Uji linearitas digunakan untuk melihat apakah metode tersebut cukup baik dalam menjalankan fungsinya menganalisis konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas dihitung berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standar yang didapatkan. Linearitas diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standar dengan memplotkan konsentrasi dengan absorbansi. Sebagai parameter hubungan linear digunakan koefisien korelasi pada analisis regresi linear $y = ax + b$ (Suhaili, 2018). Menurut Yefrida (2019), jika nilai r (koefisien korelasi) dan R^2 (koefisien determinasi)

yang dihasilkan mendekati 1 menunjukkan bahwa metode tersebut memiliki linearitas yang baik sehingga sampel yang digunakan cocok dengan metode yang ingin dilakukan.

Dalam penelitian yang dilakukan Julizan (2019) dikatakan nilai aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode DPPH menunjukkan hasil yang cukup tinggi, sehingga dapat dikatakan bahwa metode yang dilakukan pada penelitian tersebut memiliki tingkat presisi yang baik. Yefrida (2015) dalam hasil penelitiannya menjelaskan bahwa metode FRAP merupakan metode yang cukup baik untuk menguji total antioksidan pada suatu bahan. Yora (2017) dalam penelitiannya menggunakan metode FRAP menjelaskan bahwa pelarut metanol adalah pelarut terbaik untuk digunakan pada metode ini. Suhendra (2009) dalam penelitiannya menjelaskan jika reagen pada fosfomolibdat tidak bersifat spesifik untuk jenis senyawa fenol, sehingga metode ini tidak terlalu efisien untuk mengukur total antioksidan pada senyawa fenol. Namun dari beberapa penelitian tersebut, belum digunakan beberapa metode pengujian lainnya sebagai pembandingan untuk menguji nilai aktivitas dan total antioksidan. Sampel yang digunakan beberapa penelitian tersebut masih terbatas, tanpa membedakan jenis antioksidan polar atau non polarnya. Oleh karena itu diperlukan review jurnal untuk mengetahui metode-metode apa saja yang memiliki tingkat validitas dan keefektifitasan yang paling baik untuk menguji nilai dan total antioksidan pada jenis antioksidan polar maupun non polar. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya mampu mengatasi problem analisis (Rohman, 2007).

Tinjauan Pustaka

Validitas dan Antioksidan

Validitas berasal dari kata *validity* yang berarti sejauh mana ketepatan dan kecermatan suatu alat ukur dalam melakukan fungsi ukurannya. Suatu penelitian harus diuji tingkat validitas dan proses tersebut disebut dengan uji validasi. Validasi adalah suatu tindakan pembuktian dengan cara yang sesuai bahwa tiap bahan, proses, prosedur, sistem dan mekanisme yang digunakan dalam penelitian akan mencapai hasil yang diinginkan. Validasi dilakukan untuk beberapa tujuan tertentu seperti mengatasi problem analisis pada suatu metode dan mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode atau lebih. Menurut Arikalang (2018), tingkat validitas pada suatu metode harus diuji agar metode analisis yang digunakan dapat menghasilkan hasil yang optimal. Rohman (2008) menambahkan bahwa validasi merupakan salah satu langkah verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya mampu mengatasi problem analisis.

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi menghambat reaksi oksidasi, dengan mekanisme mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Radikal bebas adalah salah satu bentuk senyawa molekul oksigen yang reaktif, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor (Winarsi, 2007). Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya menyebabkan terjadinya reaksi berantai yang menghasilkan senyawa radikal baru (Sadikin, 2001). Reaksi tersebut dapat menyebabkan dampak buruk seperti kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker. Oleh karena itu tubuh memerlukan antioksidan yang berperan untuk membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meminimalisir dampak negatif senyawa radikal bebas tersebut (Karyadi, 1997). Antioksidan dalam bidang pangan berfungsi untuk mempertahankan mutu produk, mencegah ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain yang diakibatkan oleh reaksi oksidasi. Tetapi menurut Dalimartha dan Soediby (1999), antioksidan yang dihasilkan tubuh manusia tidak cukup untuk melawan radikal bebas, oleh sebab itu tubuh masih memerlukan kebutuhan antioksidan dari luar.

Menurut Molyneux (2004), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 mg/L, kuat apabila nilai IC_{50} 50–100 mg/L, sedang apabila nilai IC_{50} 100–150 mg/L, lemah bila nilai IC_{50} antara 150–200 mg/L, dan sangat lemah bila nilai IC_{50} lebih dari 200 mg/L. Teori ini didukung oleh Phongpaichit et al (2007), bahwa nilai IC_{50} dikatakan sangat kuat bila nilainya $<10 \mu\text{g/mL}$, kuat bila nilainya 10-50 $\mu\text{g/mL}$, sedang bila nilainya 5-100 $\mu\text{g/mL}$, lemah bila nilainya 100-250 $\mu\text{g/mL}$, tidak aktif bila nilainya $> 250 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} (50% *Inhibition Concentration*) adalah nilai yang digunakan untuk menentukan berapa konsentrasi senyawa antioksidan yang dapat menghambat 50% oksidasi sehingga, semakin kecil nilai IC_{50} , menunjukkan bahwa semakin besar nilai aktivitas atau total antioksidan yang dihasilkan. Sedangkan semakin besar persen penghambatan maka menunjukkan semakin besar juga kemampuan antioksidan didalam ekstrak atau bahan makanan tersebut.

Metode Pengukuran Antioksidan

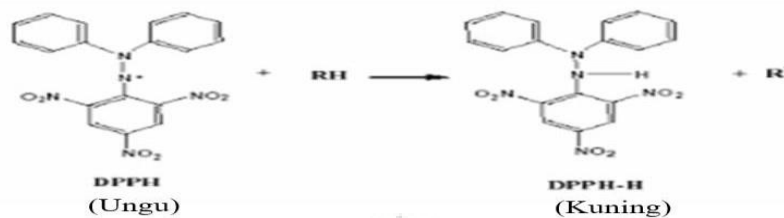
Pengukuran Nilai Aktivitas Antioksidan

Metode DPPH (2,2-diphenyl picrylhydrazyl)

Metode DPPH adalah metode pengukuran terhadap daya penangkapan radikal bebas menggunakan 1,1-difenil-2-pikrihidazil (DPPH). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang memiliki sifat stabil sehingga penggunaannya hanya cukup dilarutkan dalam uji penangkapan radikal bebas. Apabila penyimpanan dilakukan dalam kondisi kering dan baik, senyawa ini dapat bertahan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. Waktu inkubasi optimum pada metode ini adalah selama 30 menit pada suhu ruang (37°C). Metode ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu cepat, biayanya murah, dan mudah diterapkan karena senyawa radikal yang digunakan bersifat lebih stabil dibandingkan dengan metode-metode lainnya. Namun kelemahan dari metode ini adalah radikal DPPH hanya dapat dilarutkan dalam media organik, tidak pada media yang bersifat air sehingga membatasi kemampuannya dalam pengujian senyawa antioksidan yang bersifat hidrofilik (Kradag, 2009).

Prinsip utama metode DPPH adalah proses reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang mengalami perubahan warna akibat penghambatan radikal bebas. Ketika

larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan penyeimbang elektron maka DPPH akan tereduksi, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang dihasilkan dari gugus pikril (Prayoga, 2013).



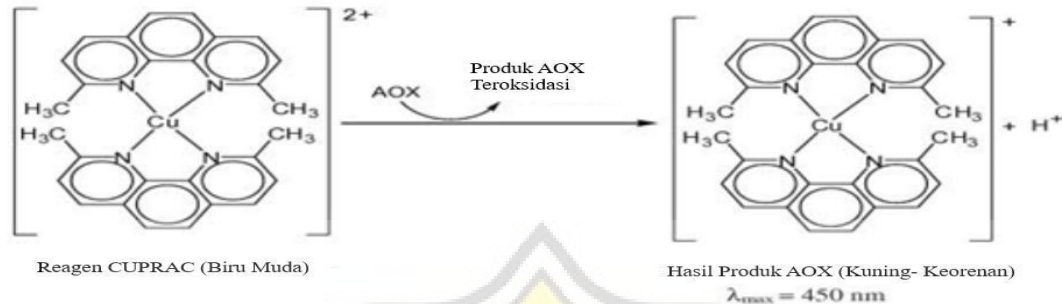
Gambar 1. Mekanisme Reaksi Kimia Metode DPPH

(Sumber : https://www.researchgate.net/figure/Gambar-1-Mekanisme-reaksi-metode-DPPH_fig1_307742760)

Metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)

Metode ini menggunakan *reagen copper(II)-neocuproine (Cu(II)-Nc)*. Metode ini dapat juga digunakan untuk mengetahui kapasitas antioksidan senyawa-senyawa fenolik. Metode ini biasa digunakan karena CUPRAC sebagai pereaksi merupakan pereaksi yang selektif, yang memiliki nilai potensial reduksi yang rendah, metode ini memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan metode pengukuran antioksidan yang lain yaitu reagen CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*) cukup cepat untuk mengoksidasi tiol jenis antioksidan. Pereaksi CUPRAC juga merupakan pereaksi selektif karena potensi redoksnya lebih rendah. Reagen Cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) lebih stabil dan dapat diakses dari reagen kromogenik lainnya seperti ABTS, DPPH. Metode ini dapat mengukur hidrofilik dan lipofilik dari antioksidan misalnya, β -karoten dan tokoferol (Apak *et al*, 2007). Prinsip dari metode ini adalah kemampuan sampel agen antioksidan dalam mereduksi kompleks Cu^{2+} menjadi kompleks Cu^+ yang ditandai dengan perubahan warna biru menjadi kuning pada spot senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan (Widyastuti, 2010). Nilai absorbansi maksimal pada metode ini berkisar di nilai 450 nm. Metode ini memiliki kelebihan yaitu potensial reduksi yang rendah dibandingkan dengan metode yang lain Widyastuti, 2010 dalam Ramadhan (2020). Metode ini efektif digunakan untuk menguji nilai aktivitas antioksidan pada senyawa-senyawa flavonoid dan fenolik Apak, 2013 dalam (Ramadhan, 2020). Namun metode CUPRAC memiliki beberapa kekurangan seperti, instrumen yang tidak praktis dan harus menggunakan volume sampel yang relatif besar.

Metode ini membutuhkan waktu 30-60 menit untuk menghasilkan molekul yang lebih kompleks (Chasana, 2018).



Gambar 2. Mekanisme Reaksi Kimia Metode CUPRAC

(Sumber : <https://bit.ly/390hGFJ>)

Metode FIC (*Ferrous Ion Chelating*)

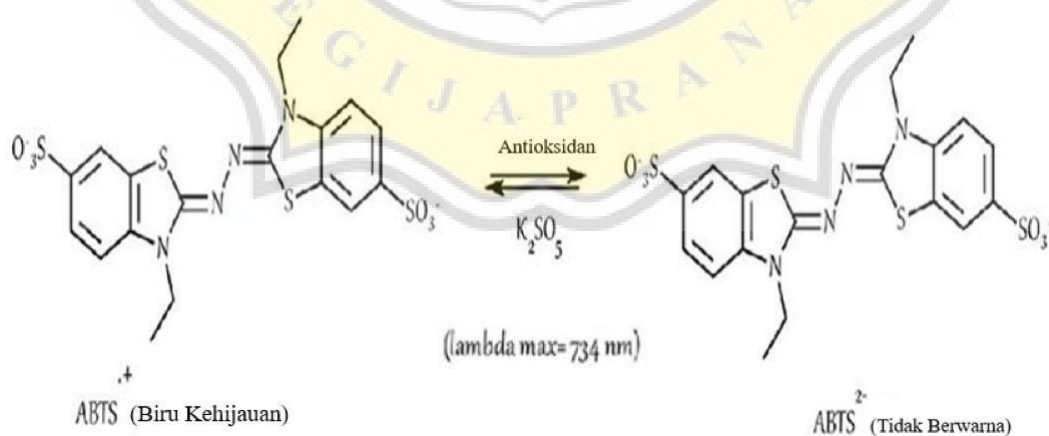
Ferrous Ion Chelating (FIC) merupakan metode yang digunakan untuk menguji kemampuan suatu senyawa dalam mengkelat logam Fe. Mekanisme metode ini adalah mengukur kemampuan antioksidan suatu senyawa untuk bersaing dengan ferrozine dalam mengkelat ion besi (Elmasta *et al.*, 2006). Secara kuantitatif, *ferrozine* memiliki kemampuan dalam mengkelat Fe^{2+} sehingga terbentuk senyawa kompleks. Senyawa kompleks tersebut akan terganggu oleh adanya senyawa pengkelat logam lainnya (Coky, 2014). Keunggulan metode ini adalah prinsipnya yang cukup sederhana, namun kekurangan metode ini adalah sensitivitasnya rendah dan memiliki daya kelat yang relatif rendah (Andjelkovic *et al.*, 2006). Senyawa polifenol dari bahan alam juga mempunyai daya kelat terhadap Fe^{2+} yang relatif lemah dibandingkan terhadap EDTA (Berker *et al.*, 2010).

Metode ABTS (*2,2'-Azinobis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]- diammonium salt*)

Metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi daripada DPPH dan dapat dipakai untuk menganalisa antioksidan pada makanan. Berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan antara DPPH dan ABTS memiliki perbedaan mekanisme reaksinya. Pada DPPH kemampuan antioksidan suatu senyawa dilihat berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mendonorkan hidrogen. Sedangkan pada uji ABTS kemampuan senyawa antioksidan dilihat berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk

menyetabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton (Setiawan, 2018).

Prinsip pengujian aktivitas antioksidan dengan metode 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 non radikal dari berwarna menjadi tidak berwarna. Metode ABTS sangat sensitif terhadap cahaya, bahkan pembentukan ABTS memerlukan waktu reaksi selama 12-16 jam dalam kondisi gelap. Panjang gelombang maksimum pada larutan ABTS yaitu pada panjang gelombang 414 nm, 645 nm dan 734 nm (Serlahwaty, 2016). Metode ABTS memiliki beberapa kelebihan yaitu, memiliki sensitivitas yang cukup tinggi dibandingkan metode lainnya, dapat dilakukan pada rentang pH yang besar, dan mampu digunakan pada system arutan yang berbasis air maupun organik (Anita, 2019). Namun metode ini memiliki kelemahan seperti harus menggunakan peralatan yang relative mahal, memakan waktu yang lama pada proses analisisnya, dan dianjurkan menggunakan volume sampel yang cukup banyak (Ilham, 2018). Metode ini juga biasa dipakai untuk menganalisa nilai aktivitas antioksidan pada makanan. (Fitriana, 2015).

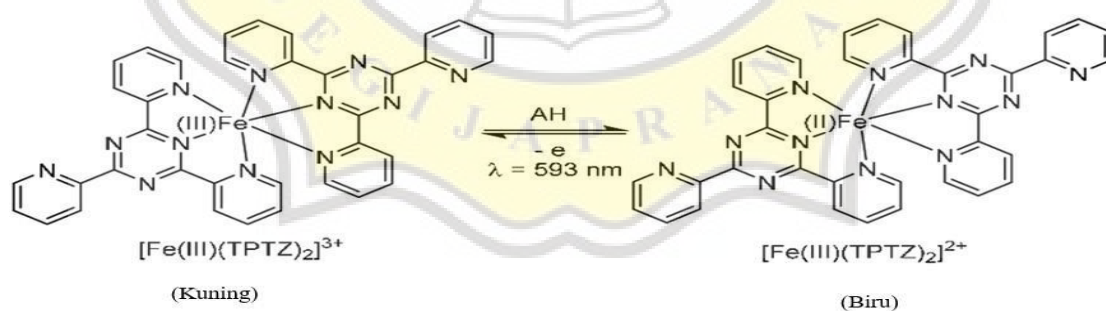


Gambar 3. Mekanisme Reaksi Kimia Metode ABTS
(Sumber : <https://www.intechopen.com/chapters/66259>)

Pengukuran Total Antioksidan

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

Metode FRAP umumnya merupakan metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan (Benzie & Strain, 1996). Metode FRAP berfungsi untuk 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 (Halvorsen *et al.*, 2002). Prinsip metode FRAP adalah reaksi transfer elektron dari antioksidan ke senyawa ferrictripirydyltriazine ($[\text{Fe}(\text{III})\text{TPTZ}]^{3+}$) dengan membentuk warna biru dari pembentukan ($[\text{Fe}(\text{II})\text{TPTZ}]^{2+}$). Senyawa Fe^{3+} -TPTZ sendiri mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel. Panjang gelombang maksimum yang digunakan pada proses analisa FRAP adalah sebesar 700 nm (Panda, 2012). Suhu inkubasi yang digunakan biasanya sebesar 20°C dan 37°C dan waktu inkubasi yang digunakan selama 20-30 menit. Metode FRAP mempunyai beberapa kelebihan yaitu, metodenya memakan biaya yang murah, cepat, reagen yang digunakan cukup sederhana dan mudah disiapkan serta tidak menggunakan alat yang khusus untuk mengukur nilai total antioksidannya (Selawa, 2013). Metode ini juga dapat dilakukan pada spektrum yang luas. Namun kelemahan dari metode ini adalah tidak dapat mendeteksi senyawa yang mengandung gugus thiol seperti glutation (Mareta, 2020).



Gambar 4. Mekanisme Reaksi Kimia pada Metode FRAP

(Sumber : https://www.researchgate.net/figure/Scheme-3-Reaction-scheme-involved-in-FRAP-assay_fig2_339120803)

Metode Fofsomolibdat

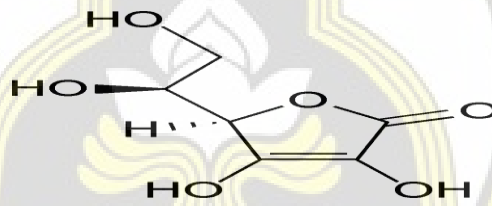
Mekanisme dari metode ini adalah dimana jika sampel adalah sampel mengandung senyawa yang memiliki daya reduksi. Proses reduksi tersebut akan mengubah molibdenum (VI) menjadi molibdenum (V) dan akan menghasilkan senyawa kompleks fosfomolibdenum yang berwarna hijau kebiruan. Perubahan warna ini adalah hasil reduksi amonium molibdat yang dikenal dengan ion Keggin $[\text{H}_3\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$ pada kondisi asam dan dengan adanya antioksidan menjadi $[\text{H}_4\text{PMo}_8^{\text{VI}}\text{Mo}_4^{\text{VO}}\text{O}_{40}]^{3-}$. Senyawa fosfomolibdenum biasanya akan terbentuk pada proses pemanasan $90\text{-}95^\circ\text{C}$ selama 60-90 menit. Hasil pengujian biasanya dinyatakan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 695 nm.

Metode fosfomolibdate memiliki beberapa kelebihan, seperti pembentukan kompleks fosfomolibdenum yang tidak bergantung pada pelarut organik yang berbeda, merupakan metode yang sederhana, biayanya murah, dan memiliki sensitivitas yang baik serta mampu menguji varian sampel yang bermacam-macam. Namun metode ini juga mempunyai beberapa kelemahan, yaitu memiliki korelasi yang buruk terhadap senyawa fenolik dan flavonoid (senyawa bioaktif), memakan waktu inkubasi yang cukup lama, serta cenderung menghasilkan hasil uji tidak spesifik (Choirunnisa, 2016). Metode fosfomolibdat biasanya mendeteksi antioksidan secara umum seperti karoten, asam askorbat, *α-tocopherol* (Prieto, 1999).

Senyawa Antioksidan

Antioksidan Polar

Vitamin C merupakan vitamin yang umumnya berupa kristal putih yang mudah larut dalam air. Vitamin C cukup stabil dalam keadaan kering, namun jika dalam keadaan larut dalam air, vitamin C akan rentan rusak terutama bila terkena panas. Vitamin C tidak stabil dalam larutan alkali, tetapi cukup stabil dalam larutan asam Almatsier, 2003 dalam Cresna (2014). Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air serta esensial untuk biosintesis kolagen (Naidu, 2003). Vitamin C memiliki beberapa peran penting bagi tubuh, seperti memperkaya reduktan biologi sebagai suatu kofaktor penting untuk reaksi-reaksi reduksi logam seperti besi dan tembaga, sebagai suatu antioksidan protektif, kofaktor reduktif untuk hidroksilasi selama pembentukan kolagen, berperan dalam fungsi sistem oksigenasi, biosintesis karnitin, dan meningkatkan penyerapan serta metabolisme zat besi. Vitamin C juga berperan untuk menurunkan prevalensi anemia pada anak dan orang dewasa.

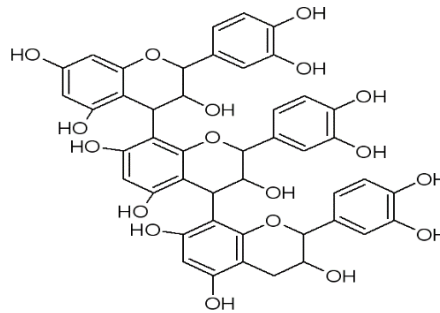


Gambar 5. Struktur Kimia Vitamin C

(Sumber : https://id.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C)

Asam askorbat merupakan antioksidan larut air. Asam askorbat menangkap secara efektif sekaligus O_2^- (anion superoksida) dan $1 O^2$ (singlet oksigen). Asam askorbat dapat memutus reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipid peroksidasi. Vitamin C juga merupakan salah satu antioksidan sekunder yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

Polifenol adalah zat kimia yang bersumber dari tumbuhan. Mekanisme senyawa polifenol sebagai antioksidan adalah dengan mendonorkan hidrogen dari gugus hidroksilnya.



Gambar 6. Struktur Kimia Polifenol

(Sumber : <https://www.gurupendidikan.co.id/senyawa-polifenol/>)

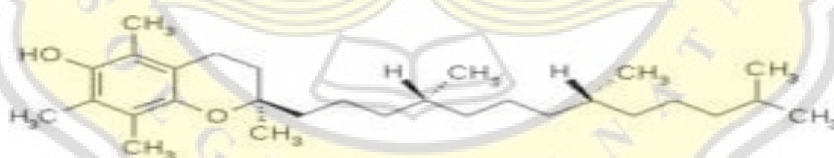
Tembaga (Cu), mineral Cu penting untuk fungsinya katalitik enzim. Enzim ini juga berperan penting dalam sistem pertahanan terhadap oksidan. Enzim SOD melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya proses perusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Sebenarnya enzim ini telah ada dalam tubuh, akan tetapi memerlukan bantuan zat gizi mineral seperti seng (Zn), dan tembaga (Cu) agar dapat bekerja. Oleh karena itu, mineral-mineral tersebut harus tersedia dalam jumlah yang cukup, jika ingin menghambat timbulnya gejala penyakit degenerative. Seng (Zn) penting bagi fungsi struktural. Enzim tersebut berperan penting dalam sistem pertahanan terhadap oksidan.

Selenium (Se) memiliki peran penting untuk sintesis dan aktivitas glutathion peroksidase yang mereduksi hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik. Aktivitas enzim ini tergantung pada adanya 4 atom Se pada sisi aktif enzim. Se memiliki efek perlindungan terhadap iradiasi UV, karsinogenesis dan penuaan.

Besi (Fe) terdapat pada Fe-SOD merupakan jenis SOD yang pertama kali dikenal yang ditunjukkan oleh keberadaan Fe sebagai logam kofaktor pada sisi aktif, yang teridentifikasi sebagai Fe dalam bentuk Fe^{2+} terlarut dalam jumlah berlebihan. Ketersediaan O_2 dalam jumlah berlebihan bisa menyebabkan mineral Fe teroksidasi, (Sayuti, 2015).

Antioksidan Non Polar

Vitamin E adalah istilah umum bagi delapan macam substansi alami yang bersifat lemak, yaitu 4 tocopherol dan 4-trienol. Diantara 8 macam substansi tersebut, *α-tocopherol* adalah jenis yang mempunyai aktivitas biologi yang tinggi dan berjumlah besar di dalam tubuh. Vitamin E merupakan istilah yang menunjukkan kelompok senyawa trienol dimana senyawa yang paling aktif dari kelompok ini adalah alfa tokoferol (Goodman's and Gillman's, 2001). Vitamin E merupakan minyak yang tidak dapat dikristalkan dan memiliki tingkat viskositas yang tinggi dan bersifat larut dalam lemak. Vitamin ini juga stabil terhadap suhu, alkali dan asam. Vitamin E juga memiliki sifat kimia berupa beberapa gugus metal pada intinaromatic tokotrienol yaitu 6 jenis tokoferol tetapi yang paling efektif *α-tokoferol*. Vitamin E juga berfungsi sebagai antioksidan, terutama untuk asam lemak tidak jenuh yang terdapat pada fosfolipid dalam membrane sel. Vitamin E berperan untuk melindungi membrane sel dari radikal bebas. Bagian membran vitamin E akan mengumpulkan radikal-radikal bebas sehingga melindungi asam lemak tidak jenuh, protein dari kerusakan oksidatif Linder, 1992 dalam Fitriani (2013). Vitamin E juga berfungsi meningkatkan ketahanan tubuh, mencegah konversi nitrit menjadi *nitrosamine* (salah satu zat karsinogenetik), meningkatkan respon kekebalan (Sayuti, 2015).

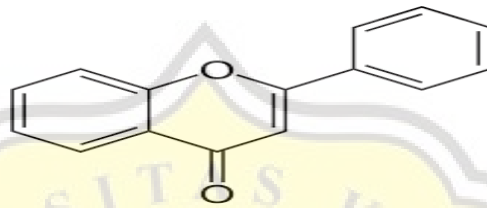


Gambar 7. Struktur Kimia Tokoferol

(Sumber : https://id.wikipedia.org/wiki/Vitamin_E)

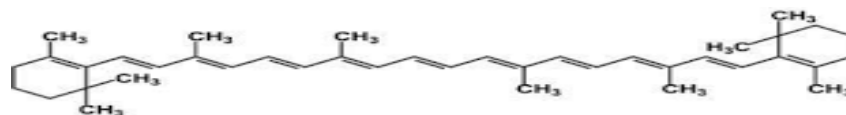
Flavonoid berkontribusi pada aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan cara mengikat (kelasi) ion-ion metal seperti Fe dan Cu. Merupakan kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dapat berperan sebagai antioksidan. Kemampuan antioksidatif flavonoid dilihat pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau kemampuannya mengkelat logam. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang beragam pada berbagai jenis sereal, sayuran dan buah-buahan. Sebagai contoh

dalam penelitian Hertog, 1992 dalam Redha (2010), lettuce (*Lactuca sativa* L) memiliki kandungan flavonoid sebesar 9 mg/kg berat segar, bawang merah (*Allium cepa* L) memiliki kandungan flavonoid sebesar 544 mg/kg berat segar, Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* A) memiliki kandungan flavonoid sebesar 172 g/kg berat segar dan seledri (*Apium graveolens* L) memiliki kandungan flavonoid sebesar 22 mg/kg berat segar.



Gambar 8. Struktur Kimia Flavonoid
(Sumber : <https://id.wikipedia.org/wiki/Flavonoid>)

Karotenoid berfungsi sebagai prekursor vitamin A, peningkatan daya tahan tubuh, juga sebagai peredam singlet oksigen, deaktivator radikal bebas, menghambat fagosit dari kerusakan oto-oksidatif. Karotenoid juga memiliki kemampuan untuk menghambat reaksi peroksidasi radikal, radikal peroksil yang terdapat didalam jaringan akan diikat oleh karotenoid pada tekanan oksigen yang rendah (Prapsiwi, 2013). Karoten terdapat dalam bentuk α , β dan γ -karoten. β -karoten memiliki fungsi yang dapat menurunkan jaringan tubuh tekanan parsial oksigen rendah, sehingga dapat melengkapi sifat antioksidan tokoferol yang aktif pada konsentrasi oksigen tinggi. β -karoten dapat bereaksi dengan radikal peroksida membentuk *α -resonance stabilized carbon-centred radical* (Meilinawati, 2020).



Struktur Kimia Beta Karoten

Gambar 9. Struktur Kimia Karotenoid
(Sumber : <file:///C:/Users/asus/Downloads/3133-5924-1-SM.pdf> p.64)

1.3. Tujuan

Tujuan dari review ini adalah untuk melihat validitas metode pengukuran antioksidan (nilai antioksidan dan total antioksidan) pada senyawa antioksidan polar dan non polar.

