

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Adas *Foeniculum Vulgare Mill*

Tanaman Adas merupakan tanaman yang dapat tumbuh di dataran tinggi serta mempunyai khasiat dalam pengobatan tradisional, bagian tanaman yang memiliki khasiat salah satunya biji adas. Tanaman adas berkhasiat sebagai diuretik, memperlancar darah, stimulan, obat sakit perut, ekspektoran, insomnia, kanker, gastritis, antihipertensi dan laktogoga (pelancar ASI). Komponen kandungan senyawa yang utama dalam tanaman adas adalah flavonoid dan fenolik (Ahwan, 2020). Adanya aroma wangi yang terdapat pada biji adas menyebabkan sebagian masyarakat menggunakannya untuk bahan penyedap makanan dan kue-kue tradisional, selain itu tingginya kebutuhan bahan baku dari tanaman adas yang digunakan sebagai obat tradisional mampu memiliki nilai ekonomis dan strategis pada bidang industri obat atau jamu, sehingga akan mendorong petani adas untuk menanam tanaman adas (Rohaman, 2004).



**Gambar 2.1** Bagian dari Tanaman Adas (a): Daun (b): Bunga (c): Batang (Aspetri, 2019)

### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman *Foeniculum Vulgare* Mill

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisio	: Spermatophyta
Subdiviso	: Mangnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Apiales
Famili	: Apiaceae
Genus	: <i>Foeniculum</i> Mill
Spesies	: <i>Foeniculum Vulgare</i> Mill (Khan, 2015)

### 2.1.2 Habitat Tumbuhan Adas

Tanaman adas ini berasal dari Eropa Selatan. Di daerah Jawa, ditanam di daerah pegunungan. Tanaman adas ini umumnya tumbuh diketinggian 1.600-2.400 meter dpl, mempunyai umur tumbuh yang cukup panjang, tingginya dari tanaman adas yaitu 50-200 cm. (Utami, 2008). Tanaman adas juga merupakan tanaman liar yang sudah mulai dibudidayakan oleh petani di daerah Jawa Tengah terutama varietas *Vulgare* banyak ditemui di Indonesia, dikarenakan harga jualnya yang cukup menarik, pemasarannya yang relatif mudah dan adanya dukungan dari pabrik-pabrik jamu obat tradisional yang menjadikan tanaman adas sebagai bahan baku, salah satunya yang biasa dimanfaatkan yaitu buah atau biji adas (Winarto, 2003).

### 2.1.3 Morfologi Tanaman Adas

Tanaman adas dari Cepogo memiliki batang berbentuk bulat oval. Batang tua berwarna hijau muda kekuningan, batang muda berwarna hijau muda/pucat, batang muda dilapisi oleh sejenis lilin berwarna putih, bentuk batang adas berbuku-buku dan dari setiap bagian buku ini muncul cabang daun atau cabang bunga. Pada percabangan yang terbentuk dari setiap buku tadi muncul daun adas yang berbentuk seperti jarum. Daun adas muda memiliki warna hijau muda terang, sedangkan daun adas tua memiliki warna hijau gelap. Daun adas memiliki stomata bertipe *diacytic*. Bunga adas memiliki ukuran 2,4 mm sampai 2,8 mm, struktur bunga lengkap terdiri dari kelopak, mahkota, putik dan benang sari, bagian mahkota adas memiliki jumlah lima helai dan berwarna kuning cerah, di antara mahkota muncul benang sari yang berjumlah lima helai, putik terletak ditengah dan berwarna kuning muda, kemudian. Buah adas yang muda berwarna hijau sedangkan buah tua berwarna abu-abu kehijauan ketika buah sudah mengering akan berwarna coklat tua, karena penampilan buahnya seperti biji maka buah adas sering disebut biji (Bermawie dkk, 2017).

### 2.1.4 Nama Daerah Tanaman Adas

Hades (Sunda), adas, adas londa, adas landi (Jawa), adhas (Madura), adas (Bali), wala wunga (Sumba), Das pedas (Aceh), adas, adas pedas (Melayu), adeh, manih (Minangkabau), paapang,

paampas (Menado), Popoas (Alfuru), denggu-denggu (Gorontalo), Papaato (Buol), porotomo (Baree), kumpasi (Sangir Talud), adasa rempasu (Makasar), Adase (Bugis) (Kemenkes RI, 2017)

### 2.1.5 Manfaat Biji Adas



Gambar. 2.2 Gambar Biji Adas (Rani dan Das, 2016)

Biji Adas memiliki manfaat sebagai anti fungi, antivirus, antialergi, antiinflamasi, antioksidan, antikarsinogenik dan antibakteri (Putra, 2018). Dikenal sebagai salah satu *all round flavouring agent* karena memiliki aroma yang khas dan menarik, sehingga banyak digunakan dalam bidang farmasi maupun industri (Kaur dan Arora, 2009). Sediaan gel ekstrak biji adas dapat mempercepat penyembuhan luka paska pencabutan gigi (Pertiwi, 2016). Potensi sebagai gastroprotektor yang tinggi dengan adanya kandungan antioksidan yaitu flavonoid yang dimiliki oleh biji adas, flavonoid tersebut memiliki efek inhibitor pada produksi radikal bebas dan memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas atau *scavenger activity* sehingga dapat mencegah mekanisme peroksida

lipid yang disebabkan oleh stres oksidatif (Susilo 2019), sedangkan Ebelarastra (2020) mengatakan kandungan ekstrak biji adas dapat berkhasiat sebagai zat antioksidan.

### **2.1.6 Kandungann Kimia Biji Adas**

Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol biji adas yaitu alkaloid (++), flavonoid (++), polifenol (++), saponin (++), tanin (++) dan steroid (++) (Abdul, 2020). Ekstrak biji adas kandungan senyawa aktif seperti alkaloid sebesar 2,8% samapi 4,23%, flavonoid sebesar 8,58% sampai 15,06%, tanin sebesar 19,71% sampai 27,77% saponin dan glikosida jantung sebesar 0,55% sampai 0,70% (Kaur dan Arora, 2009). Minyak atsiri pada biji tanaman adas pada konsentrasi 100% memiliki efektivitas yang setara dengan flukonazol dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara in vitro (Puspitawati, 2010). Ekstrak petroleum eter biji adas mengandung aktivitas aktioksidan dengan nilai tertinggi pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 48,99%, dengan menggunakan metode DPPH (Sastrawan, 2013). Sedangkan pada aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan antimikroba ekstrak minyak atsiri, metanol dan etanol biji adas, menunjukkan  $IC_{50}$  32,32 dan 23,61 sampai 26,75  $\mu\text{g/ml}$  (Anwar, 2009).

## **2.2 Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dikatakan lain

dan berapa bahan yang telah dikeringkan, dalam hal simplisia sebagai bahan baku bahwa simplisia sebagai bahan dasar yang mempunyai kandungan kimia yang bertanggungjawab terhadap respon biologis yang mempunyai spesifikasi kimia serta informasi senyawa kandungan. (Depkes RI, 2000). Tanaman adas adalah jenis simplisia yang bermanfaat bagi masyarakat salah satu bagian dari simplisia tanaman adas yang dapat dimanfaatkan yaitu biji adas dengan proses hasil panen biji adas dijemur langsung dibawah sinar matahari hingga kadar air mencapai 12-14%. Biji yang telah dikeringkan kemudian dibersihkan dari kotoran. (Cahyani, 2019). Faktor utama yang menentukan mutu simplisia adalah kadar sari air dan kadar sari etanol yang menunjukkan adanya kandungan zat yang berkhasiat dalam simplisia, kadar sari air dan etanol yang cukup tinggi akan menunjukkan bahan aktif yang terkandung dalam simplisia serta simplisia tidak banyak yang hilang selama proses pengeringan (Wahyuni, 2014).

## **2.3 Ekstraksi**

### **2.3.1 Definisi Ekstraksi**

Ekstraksi atau biasa juga yang disebut penyarian adalah proses yang dilakukan oleh cairan penyari untuk menarik keluar zat aktif yang beberapa terdapat pada tanaman obat, zat aktif yang berada didalam sel dapat mengeluarkan zat aktif tersebut dari dalam sel yang diperlukan oleh suatu cairan penyari atau pelarut tertentu. Pemilihan penyari yang baik harus mempunyai harga yang murah,

mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, mempunyai sifat selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat yang dikehendaki tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Najib, 2018).

### **2.3.2 Pelarut**

Pelarut adalah medium tempat suatu zat lain melarut, dikenal juga sebagai zat pendispersi yaitu tempat menyebarnya partikel-partikel zat terlarut sedangkan zat terlarut merupakan zat yang terdispersi didalam pelarut (Sumardjo, 2009). Pelarut yang biasa digunakan adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat (Najib, 2018). Dalam penelitian Abdul (2020) simplisia biji adas yang sudah dihaluskan kemudian pemilihan metode ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan etanol 96% (1:5).

Metanol, etanol 70% dan etanol 96% merupakan pelarut pilihan utama untuk mengekstraksi metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya dan untuk tujuan skrining kemudian memiliki daya ekstraksi yang luas sehingga semua metabolit sekunder tersari dalam tiga kali maserasi. Sedangkan jika tujuannya mengisolasi dan memurnikan senyawa target dapat menggunakan pelarut organik (etil asetat, kloroform, butanol, aseton, heksana) yang memiliki sifat ekstraksi terbaik bila dilihat menggunakan plat KLT atau HPLC atau densitometer dengan detektor UV/Vis (Saifudim, 2014).

### 2.3.3 Metode Ekstraksi

Terdapat metode ekstraksi diantara metode secara panas yang menggunakan air contohnya infusa dan soxhletasi sedangkan metode secara dingin contohnya maserasi, dalam penelitian Abdul (2020) simplisia biji adas menggunakan metode maserasi dengan cara simplisia tersebut dimasukan dalam maserator kemudian direndam menggunakan etanol 96% sambil diaduk setiap satu jam lalu didiamkan selama 24 jam setelah itu maserat disaring dengan corong *buchner* diuapkan *evaporator* dan *waterbath* suhu 60°C konsisten kental selanjutnya dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali.

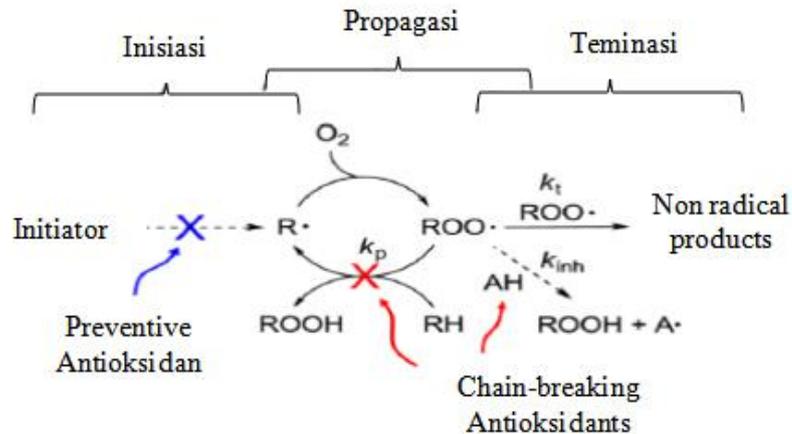
Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling mudah dengan rendemen ekstrasi tinggi, meningkatkan efisiensi penyarian (Syaiffudin, 2014). Maserasi mempunyai keuntungan pada cara pengerjaannya serta peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan atau didapat (Najib, 2018).

## 2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Kehadiran satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan ini akan menyebabkan molekul menjadi mudah tertarik pada suatu medan magnetik (paramagnetik) dan menyebabkan molekul sangat reaktif. Kemudian radikal bebas ini akan menyerang molekul yang stabil, terdekat dan mengambil elektron. Setelah itu zat yang terambil elektronnya akan

menjadi radikal bebas yang baru sehingga akan terjadi reaksi berantai yang mengakibatkan kerusakan molekul lemak, protein, maupun DNA yang rentan dengan radikal bebas (Yuslianti, 2018).

Pembentukan radikal bebas akan berlangsung terus menerus dalam tubuh manusia melalui metabolisme sel, peradangan, nutrisi maupun radiasi sinar  $\gamma$ , sinar  $x$ , sinar UV, bahan kimia pada makanan, obat-obatan, polusi lingkungan dan pada pola makan, ketika radikal bebas bereaksi dengan komponen biologis (lipid, protein dan DNA) maka akan menghasilkan senyawa teroksidasi dan terjadi kerusakan oksidatif (stres oksidasi) (Labola, 2017). Berikut merupakan gambaran tahapan dari reaksi pembentukan radikal bebas menurut Amorati, dkk (2013)



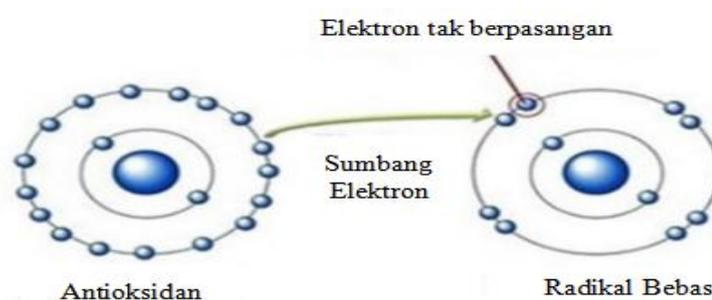
**Gambar 2.3. Tahapan dari Reaksi Pembentukan Radikal Bebas (Amorati, 2013)**

Keterangan :  $R\cdot$  = Radikal lemak,  $O_2$  = Oksigen tunggal,  $ROO\cdot$  = Radikal peroksida,  $RH\cdot$  = Radikal hidroksil,  $ROOH$  = Radikal peroksi dengan atom hidrogen,  $A\cdot$  = Elektron donor dan  $AH$  = Hidrogen donor (Amorati, 2013).

Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas mempunyai mekanisme sebagai berikut. Pertama tahap inisiasi merupakan awal pembentukan radikal bebas yaitu asam lemak bereaksi dengan oksigen triplet, membentuk radikal lemak dan radikal peroksida dengan inisiator cahaya atau panas. Kedua tahap propagasi merupakan awal dari pemanjangan rantai radikal, terjadinya oksogenasi radikal lemak ( $R^*$ ) membentuk radikal peroksida ( $ROO^*$ ) sehingga konsentrasi  $R^*$  dalam sistem makan dimana oksidasi dengan asam lemak akan membentuk hidroperoksida dan  $R^*$  baru, dekomposisi homolitik hidroperoksida yang dihasilkan oleh reaksi propagasi akan meningkatkan tingkat inisiasi oleh produksi radikal, adanya laju reaksi berasal dari molekul oksigen dengan radikal alkil yang membentuk peroksi radikal jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan laju reaksi dari radikal peroksi dengan atom hidrogen. Ketiga tahap terminasi merupakan senyawa radikal yang bereaksi dengan radikal lainnya atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah kemudian akan terbentuk spesies non radikal yang stabil (Sayuti, 2015). Pada tahapan inilah antioksidan berperan, dimana ion hidrogen dari antioksidan bereaksi dengan radikal peroksida, antioksidan akan memecah rantai radikal kemudian menetralkan dan radikal antioksidan yang terbentuk membuat rantai radikal tidak mampu melanjutkan reaksi berantai radikal bebas (Ebelarastra, 2020).

## 2.5 Antioksidan

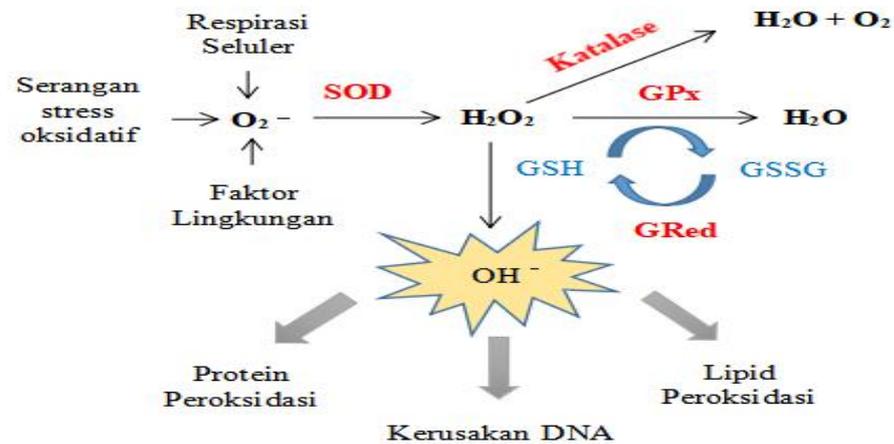
Antioksidan adalah senyawa yang memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan tubuh dengan cara menangkal radikal bebas sehingga menghambat reaksi oksidasi dalam tubuh yang menyebabkan berbagai penyakit (Magfira, 2018). Produksi antioksidan didalam tubuh manusia terjadi secara alami untuk mengimbangi produksi radikal bebas.



**Gambar 2.4. Antioksidan Menetralkan Radikal Bebas (Erlidawati, 2018)**

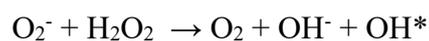
Antioksidan memiliki tiga golongan yaitu antioksidan primer yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi) (Transferin, Feritin, Albumin), antioksidan sekunder yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas (Superoksida dismutase (SOD), Glutation peroksida (GPx) dan Catalase (CAT)), antioksidan tersier berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas (Metionin sulfosida reduktase, *DNA repair enzymes*, *protease*, *transferase*, dan *lipase*), salah satu jenis radikal bebas yang paling banyak dalam sistem biologis tubuh yaitu radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS), jika produksi ROS berlebihan maka antioksidan endogen perlu tambahan antioksidan eksogen yang dapat berasal dari asupan makanan dan minuman yang

dikonsumsi (Parwata, 2016). Gambaran mekanisme antioksidan endogen sebagai pertahanan tubuh menurut G.Eckert dalam Wedhasari (2014) :

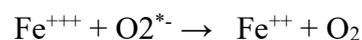


Gambar 2.5. Mekanisme Antioksidan Endogen sebagai Pertahanan Tubuh (Wedhasari, 2014).

Secara endogen respon radikal bebas dapat timbul melalui respirasi seluler, serangan stress oksidatif dan faktor lingkungan. Kemudian oksigen yang teraktivasi dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas oksigen disebut senyawa radikal Anion superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) diproduksi di beberapa tempat yang memiliki rantai transport elektron, sedangkan senyawa  $H_2O_2$  dapat berbahaya apabila bergabung dengan anion superoksida dan menjadi senyawa yang paling reaktif bila terdapat ion  $Fe^{+++}$  atau  $Cu^{++}$  dikarenakan dapat membentuk radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ) melalui reaksi haber-weiss:



Reaksi Haber-weiss memerlukan ion  $Fe^{+++}$  atau  $Cu^{++}$  untuk membentuk radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ) dengan melalui 2 tahap



Senyawa  $\text{H}_2\text{O}_2$  dapat mengoksidasi dan dapat membentuk radikal bebas apabila bereaksi dengan  $\text{Fe}^{++}$ , salah satu senyawa yang terdapat dalam retikulo endoplasmik (mikrosom) seperti glutation, dengan reaksi:



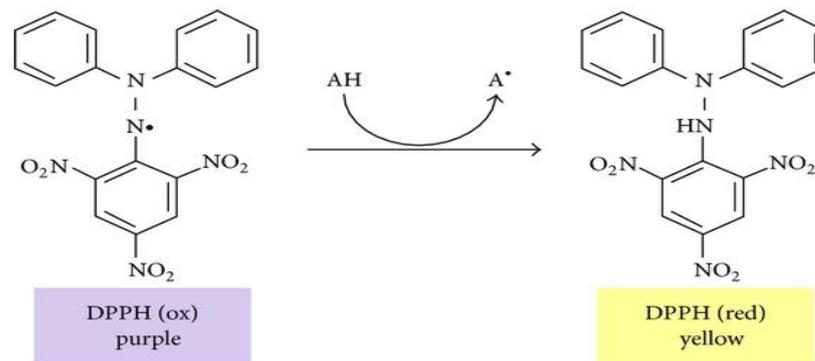
Mekanisme pertahanan tubuh yang diperankan oleh enzim superoksida dismutase (SOD) mengubah radikal superoksida menjadi peroksida yang masih bersifat aktif yang terjadi di sitosl dan mitokondria. Katalase mampu mengatalisis dismutase hidrogen peroksida menjadi air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) dan Oksigen ( $\text{O}_2$ ) didalam eritrosit. Enzim glutation peroksidase (GPx) bekerja dengan cara mengoksidasi glutation dalam bentuk tereduksi GSH menjadi bentuk teroksidasi GSSG didalam sitoplasma, GSH akan terus tersedia untuk membantu kerja enzim GPx, GSSG direduksi menjadi GSH fungsi ini diperankan oleh enzim glutation reduktase (GRed). Dikarenakan tubuh tidak mempunyai enzim yang dapat mengubah  $\text{OH}^\cdot$  yang bersifat lebih reaktif dan berbahaya yang dapat menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi lipid, protein dan DNA, maka tubuh manusia dapat menetralsir radikal bebas jika jumlah pertahanan antioksidan endogen lebih banyak dibandingkan radikal bebasnya (Werdhasari , 2014)

Sumber tambahan antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia salah satunya antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman yang mempunyai kandungan senyawa falvonoid. Flavonoid berfungsi sebagai zat pengkelat dari logam-logam Cu dan Fe

yang bertujuan sebagai katalis dalam reaksi fenton yang merupakan reaksi perubahan Hidrogen peroksida menjadi  $\text{OH}^\cdot$ , dengan adanya proses khelat akan menurunkan aktivitas katalitik dari logam Cu dan Fe sehingga mengurangi terbentuknya radikal  $\text{OH}^\cdot$  dan secara otomatis akan menurunkan proses kerusakan pada DNA serta pemberian  $\text{H}^\cdot$  oleh suatu antioksidan dapat menghentikan reaksi-reaksi radikal selanjutnya (Parwata, 2016). Oleh karena itu, diperlukan suatu metode analisa aktivitas antioksidan yang selektif, menurut Maesaroh, dkk (2018) kolerasi antara uji untuk semua standar antioksidan terbukti sangat tinggi ( $R > 0,98$ ), khususnya pada DPPH dan FRAP.

## 2.6 Metode DPPH

Radikal bebas dikenal sebagai faktor utama dalam kerusakan biologi, dan DPPH digunakan untuk mengevaluasi aktivitas peredaman radikal bebas dari suatu antioksidan alami (Yuhernita dan Juniarti, 2011). DPPH merupakan metode dengan pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen (Sayuti, 2015). Mekanisme DPPH yaitu berperan sebagai penangkap radikal hidrogen bebas (*hydrogen radical scavenger*) atau penangkap elektron yang berasal dari suatu senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya, tiap molekul yang dapat mendonorkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dengan antioksidan dan menyebabkan penurunan intensitas warna atau absorbansi larutan DPPH dengan warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning (Saputra, 2013)



**Gambar 2. 6. Mekanisme Penghambatan DPPH dari Senyawa Antioksidan (Teixeira dkk, 2013)**

Metode DPPH yang memiliki prinsip penurunan intensitas absorbansi DPPH yang sebanding dengan kenaikan nilai konsentrasi senyawa antioksidan yang dinyatakan dalam  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration 50*) (Sadeli, 2016). Besarnya persentase aktivitas antioksidan dapat dihirung dengan rumus :

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Nilai  $IC_{50}$  pada penangkapan radikal DPPH diperoleh berdasarkan persamaan regresi liier seri konsentrasi sampel terhadap persen inhibisi,  $y=a+bx$ , ( $Y= \% \text{ inhibisi}$ ,  $X= \text{ konsentrasi sampel}$ ) nilai  $IC_{50}$  dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Dalam penentuan aktivitas antioksidan diperlukan pembanding yang sudah diketahui sebagai antioksidan salah satunya dapat menggunakan vitamin C sebagai pembanding (Qonitah, 2019).

Parameter dari nilai  $IC_{50}$  terhadap aktivitas antioksidan diantaranya sangat kuat  $<50$  ppm, kuat 50-100 ppm, sedang 100-200 ppm dan lemah  $>200$  ppm (Sari dan Ayati, 2018). Untuk mengetahui seberapa

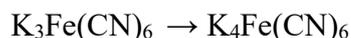
besar daya peredaman atau nilai  $IC_{50}$  dapat dilakukan dengan pengukuran secara spektrofotometer UV-Vis, prinsip dari pengukuran adalah mengukur besarnya absorbansi pemucatan warna larutan DPPH dengan panjang gelombang maksimum (Nurfadillah dkk, 2016). Menurut Sastrawan (2013) tentang skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji adas menggunakan metode DPPH dengan panjang gelombang maksimum  $\lambda$  517 nm.

Reagen yang sudah diberikan larutan DPPH perlu dicampur hingga homogen dan di biarkan selama 30 menit ditempat yang gelap dan terlindung dari cahaya, prinsip pada kandungan flavonoid yaitu semakin besar nilai kandungan flavonoid maka semakin tinggi nilai aktivitas antioksidannya, parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) yaitu dimana semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi,  $IC_{50}$  adalah kemampuan suatu sampel untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi suatu sampel, yang didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi kontrol (peredaman) dengan sampel yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis) (Anggresani, 2017).

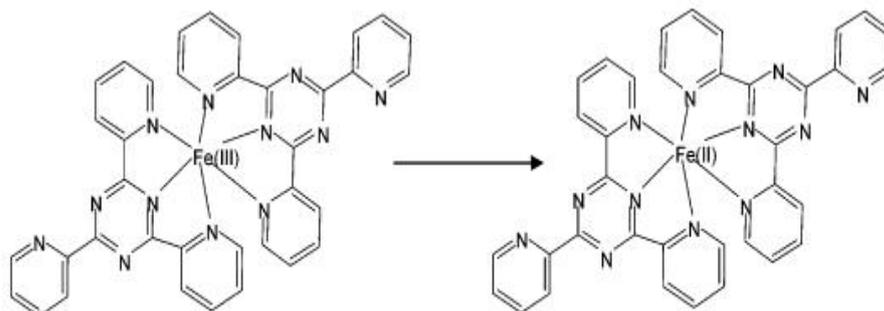
## **2.7 Metode FRAP**

Penentuan aktivitas antioksidan lainnya dapat menggunakan metode FRAP untuk perhitungan total flavonoid (Samosir, 2012). FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan metode sederhana, yang mempunyai cara kerja cepat, prosedur dan reagen yang diperlukanpun

cukup sederhana dan tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan (Maryam, 2015). FRAP adalah salah satu metode uji aktivitas antioksidan yang mekanismenya menginaktifkan radikal bebas dengan cara mentransfer elektron tidak berpasangan, adanya aktivitas antioksidan akan mereduksi oksidan yang dapat menyebabkan perubahan warna (Magfira, 2018). Prinsip FRAP yaitu adanya antioksidan dalam sebuah sampel akan mereduksi ion ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) menjadi ion ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) oleh senyawa antioksidan dengan reaksi:



Metode FRAP dilakukan berdasarkan kemampuan suatu senyawa dalam mereduksi kalium ferrisianida ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) menjadi kalium ferrosianida ( $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) (Jayanthi, 2011). Berdasarkan reduksi analog ferroin, dengan kompleks  $\text{Fe}^{3+}$  dari tripiridiltriazin  $\text{Fe}(\text{TPTZ})^{3+}$  yang tidak berwarna menjadi kompleks  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}(\text{TPTZ})^{2+}$  yang berwarna biru intensif terdapat pada suasana asam (M.Pisoschil, 2011). Reaksi yang terjadi sebagai berikut:



$\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ} + \text{Reduksi Antioksidan} \rightarrow \text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ}$  (Biru pekat pada  $\lambda$  595nm)

**Gambar 2.7. Reaksi Redoks untuk Kompleks Besi dalam Uji FRAP (Pebriana dkk, 2019)**

Semakin tinggi nilai absorbansi akan menunjukkan tingginya konsentrasi  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ yang tereduksi menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ oleh ekstrak sampel yang mengandung senyawa antioksidan (Istiningrum, 2013). Pada uji aktivitas antioksidan terong belanda dengan metode FRAP menyatakan sebelum penambahan reagen FRAP pada sampel menunjukkan larutan tidak berwarna kemudian setelah penambahan reagen FRAP akan berubah menjadi larutan biru yang menandakan positif ada aktivitas antioksidan (Syarif, 2015)

Adanya kemampuan suatu ekstrak tanaman sebagai antioksidan dapat diwakili oleh suatu besaran TAC (*Total Antioxidant Capacity*) yang merupakan kapasitas antioksidan kumulatif yang terdapat dalam suatu sampel tanpa menunjukkan jenis senyawa aktifnya, penentuan TAC dilakukan dengan uji FRAP, kemudian ada kurva kalibrasi yang dibuat untuk menentukan konsentrasi kompleks  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ dalam sampel dengan menggunakan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  sebagai suatu larutan standar (Istiningrum, 2013). Dengan cara, mencampurkan reagen FRAP pada sampel, reagen FRAP terdiri dari campuran TPTZ,  $\text{FeCl}_3$  dan buffer asetat (Yefrida, 2015).

Senyawa  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel tubuh, sedangkan ekstrak pada sampel yang mengandung antioksidan kemudian dapat mereduksi senyawa  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ yang tidak akan melakukan reaksi yang merusak sel-sel tubuh (Istiningrum, 2013). Penambahan  $\text{FeCl}_3$  dalam reagen untuk membentuk senyawa kompleks  $\text{Fe}^{3+}$  dan

memperlambat reaksi reduksi menjadi  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  yang terjadi sangat cepat oleh pengaruh cahaya. Buffer Asetat digunakan sebagai suasana asam atau PH rendah yang efektif untuk reaksi reduksi (Muflihunna, 2014)

Parameter yang bisa digunakan untuk hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP yaitu dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  dimana bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas FRAP sebesar 50%. Uji aktivitas peredaman radikal dengan metode FRAP dilakukan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis, panjang gelombang maksimum dan waktu inkubasi 30 menit untuk mengoptimalkan terjadinya reaksi antara FRAP dengan senyawa antioksidan dilihat dari nilai absorbansinya yang tidak mengalami penurunan kembali (Sugihartini, 2019). Menurut Karim dkk (2014) menyatakan bahwa konsentrasi efektifitas pada 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) dari nilai FRAP adalah konsentrasi sampel yang diperlukan untuk mengurangi 0,5 mol ( $500 \mu\text{M}$ )  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ .

## 2.8 Landasan Teori

Sumber antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia di bagi menjadi tiga kelompok diantaranya pertama antioksidan yang sudah diproduksi didalam tubuh manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen, kedua antioksidan sintetis (yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan ketiga antioksidan alami (yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alami) beberapa contoh sumber antioksidan alami yaitu bagian - bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, biji

dan serbuk sari yang mengandung vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid) (Parwata, 2016).

Salah satu tanaman obat yang ada di Indonesia yang dapat dijadikan sumber antioksidan adalah biji adas. Biji adas merupakan salah satu tumbuhan obat yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional maupun bumbu masakan, sedangkan kandungan ekstrak etanol biji adas berpotensi sebagai zat antioksidan terutama flavonoid dan fenol yang merupakan sumber antioksidan dalam tumbuhan (Ebelarastra, 2020). Menurut Sastrawan dkk (2013) menyatakan bahwa biji adas mengandung senyawa aktif flavonoid, tanin dan saponin. Serta menurut Ambo dkk. (2015) menyatakan bahwa biji adas mengandung minyak atsiri, flavonoid dan saponin yang berkhasiat sebagai anti jamur, sedangkan. Pemanfaatan biji adas, menurut Susilo, (2019) dalam bidang kesehatan berkaitan dengan kandungannya yang tinggi akan asam organik, protein, kolin, trigonelin dan antioksidan berupa flavonoid yang dapat mencegah terjadinya mekanisme peroksidasi lipid yang disebabkan oleh stres oksidasi.

Berdasarkan pernyataan di atas dapat diketahui bahwa kandungan flavonoid merupakan salah satu senyawa yang terdapat pada senyawa polifenol yang mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas sehingga aktivitas antioksidan pada senyawa polifenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau penghentian reaksi berantai yang terjadi (Handayani dkk, 2014).

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak petroleum eter biji adas diketahui pernah dilakukan oleh Sastrawan dkk. (2013) dengan menggunakan metode DPPH dan menghasilkan aktivitas antioksidan sebesar 48,99 % pada konsentrasi 1000 ppm. Sedangkan berdasarkan hasil penelitian Anwar dkk. (2009) menyatakan bahwa dengan metode DPPH diperoleh hasil aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam  $IC_{50}$  dari minyak atsiri biji adas ( $IC_{50} 32,32 \pm 0,77$  ( $\mu\text{g/mL}$ )), ekstrak 100% metanol biji adas ( $IC_{50} 26,75 \pm 1,06$  ( $\mu\text{g/mL}$ )), ekstrak 80% metanol biji adas ( $IC_{50} 24,25 \pm 0,72$  ( $\mu\text{g/mL}$ )), ekstrak 100% etanol biji adas ( $IC_{50} 26,10 \pm 0,90$  ( $\mu\text{g/mL}$ )) dan ekstrak 80% etanol biji adas ( $IC_{50} 23,61 \pm 0,89$  ( $\mu\text{g/mL}$ )), serta kandungan fenolik dan flavonoid total terbesar terdapat dalam ekstrak 80% etanol biji adas masing - masing sebesar  $967,50 \pm 35,51$  GAE ( $\text{mg}/100\text{g}$ ) dan  $681,96 \pm 24,11$  CE ( $\text{mg}/100\text{g}$ ).

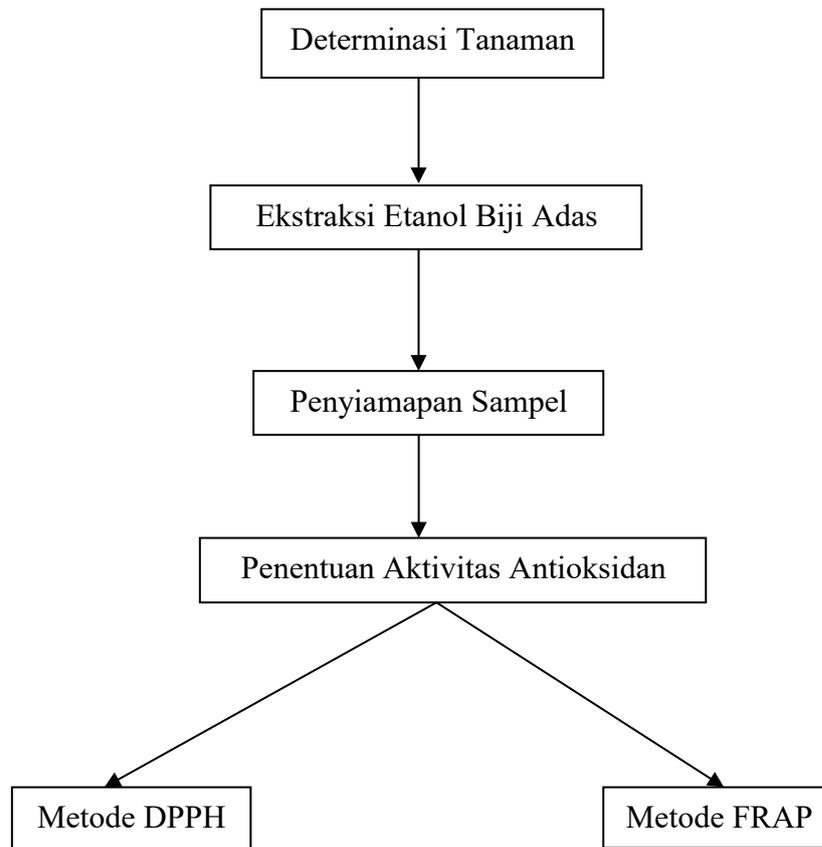
Berdasarkan penelitian diatas diketahui bahwa pengujian aktivitas antioksidan pada biji adas pernah dilakukan dengan metode DPPH. Informasi tersebut dapat digunakan untuk mendukung penelitian terkait aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji adas dengan menggunakan dua metode DPPH dan FRAP dengan Vitamin C sebagai pembanding.

## 2.9 Hipotesis

Berdasarkan uraian sebelumnya dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

- a. Ekstrak etanol Biji Adas memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*2,2-dyphenyl-1-pikrilhidrazil*) dan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).
- b. Ada perbedaan aktivitas antioksidan metode DPPH (*2,2-dyphenyl-1-pikrilhidrazil*) dan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dari ekstrak etanol Biji Adas (*Foeniculum Vulgare Mill*).

## 2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep