

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Markisa Ungu (*Passiflora edulis* Sims.)



Gambar 2.1 Tanaman Buah Markisa

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Markisa Ungu (*Passiflora edulis* Sims.)

Tanaman markisa ungu diklasifikasikan, sebagai berikut (Samson, 1986).

Kerajaan : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Anak kelas : *Dilleniidae*

Bangsa : *Violales*

Nama suku : *Passifloraceae*

Marga : *Passiflora*

Nama jenis : *Passiflora edulis* Sims.

2.1.2 Morfologi Tanaman Markisa Ungu (*Passiflora edulis* Sims.)

Daun *Passiflora edulis* var. *edulis* memiliki bentuk bercapung tiga dengan ujung daun yang bergerigi dan meruncing. Panjang daun pada varietas ini sekitar 10,6 cm, dengan lebar sekitar 9,8 cm. Warna daun cenderung gelap, dengan permukaan depan dan belakang berwarna hijau tua. Posisi tangkai daun (*petiole*) pada *nectaries* kedua jenis markisa ini terletak cukup jauh dari helaian daun (Siregar & Gultom, 2018).

Bunga markisa termasuk jenis bunga tunggal yang muncul di ruas cabang, tepatnya di ketiak daun. Bunga ini memiliki ukuran besar dengan bentuk seperti cawan yang khas dan menarik. Khusus pada varietas *Passiflora edulis* var. *edulis*, tepi daunnya bergeligi. Kelopak bunganya berjumlah lima helai, tersusun dalam dua lapisan dengan warna yang berbeda: hijau di lapisan luar dan putih di lapisan dalam. Tangkai bakal buahnya cukup panjang, sementara bakal buah berbentuk lonjong dan menonjol dari pangkal bunga. Kepala putik (bagian sel kelamin betina) ada tiga buah, berbentuk menyerupai tanda salib, dengan tangkai kepala putik yang panjang dan berwarna hijau (Siregar & Gultom, 2018). Bunga markisa tumbuh sebagai bunga tunggal dengan ukuran yang besar. Ia memancarkan aroma harum dan berbentuk seperti cawan atau mangkuk. Jenis bunganya hermafrodit, artinya berkelamin dua. Strukturnya mencakup lima benang sari, tiga kepala putik, serta satu bakal buah yang berisi ratusan ruang; ruang-ruangan ini akan berkembang menjadi biji jika penyerbukan berjalan sempurna (Latifa, 2024).

Mahkota bunga markisa terdiri dari banyak benang-benang halus dengan warna yang bervariasi antara ungu dan putih. Pada varietas *Passiflora edulis var. edulis*, benang-benang ini tidak lurus melainkan bergelombang seperti riak-riak. Bunga markisa termasuk jenis bunga sempurna atau hermafrodit, di mana organ jantan dan betina berada dalam satu bunga yang sama. Proses penyerbukan dapat dilakukan oleh serangga atau melalui penyerbukan sendiri (Siregar & Gultom, 2018).

Buah markisa dari varietas *Passiflora edulis var. edulis* berukuran sedang dan berbentuk bulat, dengan kulit berwarna ungu tua. Buah ini merupakan hasil utama dari tanaman markisa yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan. Di dalamnya terdapat banyak biji yang dilapisi oleh daging buah berair (sari buah) yang memiliki rasa asam atau manis. Pulp pada *Passiflora edulis var. edulis* berwarna kuning, dan bagian inilah yang biasa dikonsumsi baik secara segar maupun diolah menjadi sari buah, jus, atau sirup (Siregar & Gultom, 2018).

Biji markisa dari varietas *Passiflora edulis var. edulis* berbentuk pipih dan berwarna hitam. Biji-biji ini dibungkus oleh salut biji atau selaput lendir yang berisi cairan sari buah berasa asam serta memiliki aroma khas yang harum. Biji tersebut bersifat berkeping dua dan dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak tanaman melalui pembiakan. Di Kabupaten Karo, petani markisa umumnya menggunakan biji ini sebagai sarana memperbanyak tanaman (Siregar & Gultom, 2018). Biji markisa berbentuk gepeng, berukuran kecil, dan berwarna hitam, dengan setiap

biji dibalut lendir yang mengandung cairan. Biji ini memiliki aroma khas, berpigmen kuning, dan berlendir. Kandungannya mencakup 0,3% kapur, 0,66% fosfor, 9,33% lemak, 7,52,2% serat kasar, serta 18,3% pati. Biji markisa dapat dimanfaatkan sebagai media perbanyakan tanaman (Siregar & Gultom, 2018). Tanaman ini mampu tumbuh pada ketinggian 600-2000 mdpl, walaupun pertumbuhan dan produksinya paling optimal di atas 1.500 mdpl. Kebutuhan curah hujan mencapai 1.500-2.000 mm per tahun. Secara umum, markisa adaptif terhadap berbagai tipe tanah, tetapi tumbuh paling subur di tanah berpasir yang gembur, kaya humus, dengan pH 6-7,5 (Armando *et al.*, 2022).

2.1.3 Kandungan Tanaman Markisa Ungu

Markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims.) telah terbukti mengandung zat bioaktif yang memiliki potensi sebagai antioksidan, termasuk karotenoid, antosianin, flavonoid, dan vitamin C (Dos Reis *et al.*, 2018). Kandungan zat antioksidan dalam buah markisa ungu memperlihatkan kemungkinan buah markisa ini sebagai sumber antioksidan alami (Dos Reis *et al.*, 2018).

Rasa khas pada markisa disebabkan oleh asam-asam organik dan perbandingan antara gula dan asam yang terkandung di dalamnya. Markisa kuning mengandung asam lebih banyak dibandingkan markisa ungu, dengan asam sitrat sebagai komponen utama. Kedua varietas markisa memiliki nilai pH sekitar 3. Kandungan total karbohidrat pada kedua varietas ini berkisar antara 15 sampai 20%. Rasio gula terhadap

asam pada markisa kuning adalah 3:8, sedangkan pada markisa ungu adalah 2:1, sehingga markisa kuning memiliki rasa yang lebih asam dibandingkan markisa ungu.

2.1.4 Manfaat Tanaman Markisa Ungu

Kulit dari buah markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims.) telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Penggunaan kulit buah markisa ungu dalam pengobatan tradisional yang paling sering dijumpai adalah sebagai obat untuk diabetes, sebagai antioksidan, penurun tekanan darah, serta untuk mengatasi kecemasan, gangguan tidur, bronkitis, dan asma (Azzahrah *et al.*, 2023).

Buah markisa ungu ini ternyata banyak mengandung serat, gula, serta kaya zat gizi (protein, vitamin A, tiamin, riboflavin, niasin, vitamin C, Fe, Ca, potassium), rendah sodium, kolesterol dan asam lemak jenuh. Selain kandungan zat gizinya, buah tropis ini juga mengandung komponen fitokimia non nutrisi, yang membuat buah eksotis penuh citarasa ini memiliki nilai kesehatan. Sejumlah antioksidan, yaitu carotenoid dan polifenol ditemukan pada markisa ungu (Munafiah *et al.*, 2017).

Biji markisa mampu meningkatkan elastisitas kulit karena mengandung asam oleat dan linoleat yang terdapat dalam buah markisa. Kandungan ini berperan penting dalam menunda munculnya tanda-tanda penuaan dini. Selain itu, berbagai sumber juga menyebutkan bahwa biji markisa efektif dalam memperlambat proses penuaan dini (Sari, 2019).

Manfaat lain dari biji markisa adalah membantu melancarkan pencernaan berkat kandungan serat yang dimilikinya. Markisa juga mengandung senyawa kimia yang berfungsi untuk membunuh sel kanker, serta kaya vitamin B dan potasium (Sari, 2019).

Kandungan fitokimia dalam markisa meliputi *passiflorine*, harmin, harman, harmol, harmalin, viteksin, isoviteksin, krisin, karoten, nisin, riboflavin, karotenoid sebanyak 0,058%, flavonoid 1,000%, dan alkaloid 0,700%. Di beberapa wilayah, jus markisa digunakan sebagai stimulan pencernaan serta pengobatan untuk kanker lambung. Selain itu, jus ini juga dikenal sebagai obat penenang. Tidak hanya buahnya, bagian lain dari tanaman markisa juga memiliki manfaat kesehatan. Tanaman ini mengandung berbagai vitamin dan mineral dalam kadar yang cukup tinggi, yang berperan penting dalam metabolisme tubuh. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa alkaloid dalam markisa dapat membantu menenangkan sistem saraf (Sari, 2019).

Temuan penelitian ini semakin menguatkan penggunaan markisa sebagai ramuan tradisional yang telah dipraktikkan di Brazil, Peru, dan negara-negara Amerika Latin lainnya selama berabad-abad. Selain berfungsi untuk menenangkan saraf, markisa juga digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit lainnya. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa minyak biji markisa telah dimanfaatkan sebagai obat alami untuk relaksasi, berperan sebagai depresan yang membantu mengurangi rasa gugup di pagi hari. Buah markisa mampu meredakan ketegangan otot,

menurunkan tingkat kecemasan, mengatasi sakit kepala, kejang otot, dan spasme, serta menurunkan tekanan darah. Sementara itu, daun markisa efektif untuk mengatasi insomnia yang disebabkan oleh gangguan saraf (Sari, 2019).

Ketertarikan industri farmasi, khususnya di Eropa, terhadap penggunaan glikosida *passiflorine* sebagai obat penenang (sedatif) telah meningkat. Ahli kimia dari Italia telah berhasil mengekstrak *passiflorine* dari daun *Passiflorine edulis* Sims. yang dikeringanginkan. Di Madeira, jus markisa dimanfaatkan sebagai stimulan pencernaan dan terapi untuk kanker lambung. Selain itu, mengonsumsi ekstrak buah markisa ungu dapat membantu mengurangi gejala asma dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Karsinah, 2010).

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair, produk yang dihasilkan dari proses ekstraksi dikenal sebagai ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Ekstrak merupakan formulasi konsentrat yang dihasilkan melalui pengambilan senyawa aktif dari bahan nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang tepat, setelah itu, semua atau hampir seluruh pelarut dihilangkan dengan cara diuapkan, dan sisa massa atau serbuk

yang tertinggal perlu disiapkan sedemikian rupa sehingga memenuhi kriteria yang telah ditentukan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi

Metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan ada tidaknya pemanasan, yaitu ekstraksi dengan cara dingin dan cara panas, Safitri *et al* (2018). Ekstraksi cara dingin pada dasarnya tidak menggunakan pemanasan selama proses berlangsung agar senyawa yang diinginkan tetap terjaga kualitasnya. Sementara itu, ekstraksi cara panas melibatkan pemanasan dengan tujuan mempercepat proses ekstraksi, (Rahayu, 2017).

Metode ekstraksi cara panas meliputi teknik refluks, soxhlet, digesti, infusa, dan dekok, sedangkan untuk cara dingin digunakan metode maserasi dan perkolasi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

a. Cara Dingin

1) Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi bahan simplisia menggunakan pelarut, yang melibatkan pengocokan atau pengadukan berulang kali pada suhu kamar. Dari segi teknologi, proses ini termasuk dalam kategori ekstraksi yang mengandalkan prinsip pencapaian konsentrasi setimbang. Maserasi kinetik dilakukan dengan pengadukan secara berkelanjutan tanpa henti.

Sementara itu, remaserasi melibatkan pengulangan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat awal, dan proses ini diulang lagi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut segar secara berkelanjutan hingga prosesnya tuntas (ekstraksi habis), biasanya dilakukan pada suhu kamar. Proses ini melibatkan beberapa tahap, yaitu pengembangan bahan, maserasi sementara, serta perkolasi utama (melalui peneteskan atau pengumpulan ekstrak), yang dilakukan secara terus-menerus hingga menghasilkan perkolat sebanyak 1-5 kali volume bahan awal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

b. Cara Panas

1) Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut pada suhu titik didihnya, yang berlangsung selama periode waktu tertentu dengan volume pelarut yang terbatas dan relatif tetap, didukung oleh pendingin balik. Biasanya, proses ini diulang pada residu awal hingga 3-5 kali, sehingga dapat dikategorikan sebagai metode ekstraksi yang menyeluruh dan sempurna (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2) Soxhlet

Soxhlet merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan pelarut segar secara berkelanjutan, biasanya dilakukan menggunakan peralatan khusus yang memungkinkan proses ekstraksi berlangsung secara kontinyu, sambil menjaga volume pelarut tetap relatif stabil berkat adanya pendingin balik (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

3) Digesti

Digesti merupakan varian maserasi kinetik yang melibatkan pengadukan secara berkelanjutan, dilakukan pada suhu yang melebihi temperatur kamar, dengan rentang umum antara 40-50°C (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

4) Infus

Infus merupakan proses ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut pada suhu pemanas air, di mana bejana infus dicelupkan ke dalam air mendidih dengan suhu yang tercatat 96-98°C, dan proses ini berlangsung selama periode waktu tertentu, yaitu 15-20 menit (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

5) Dekok

Dekok merupakan varian infus yang dilakukan dengan durasi waktu lebih panjang (sekitar 30 menit) dan suhu yang ditingkatkan hingga mencapai titik didih air (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.2.3 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk mengeluarkan komponen kimia yang terkandung dalam simplisia. Proses ini didasarkan pada perpindahan massa zat padat dari simplisia ke dalam pelarut, di mana pelarut menembus permukaan dinding sel dan kemudian terjadi difusi akibat perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Ekstraksi dilaksanakan dengan tujuan untuk memperoleh senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Dalam penelitian ini, metode yang digunakan untuk ekstraksi adalah maserasi, yang dipilih karena prosesnya yang relatif mudah dan sederhana, serta kandungan aktif pada tanaman biasanya tidak tahan terhadap panas. Prinsip kerja maserasi berfokus pada pemindahan massa komponen zat yang larut ke dalam pelarut, sehingga tercipta pergerakan di lapisan antarmuka yang kemudian berdifusi ke dalam pelarut (Octavia *et al.*, 2023).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai zat yang mampu menunda atau mencegah reaksi autooksidasi radikal bebas pada proses oksidasi lipid. Mekanisme kerjanya melibatkan pemberian satu elektron ke senyawa oksidan, sehingga aktivitas senyawa tersebut dapat dihambat. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangatlah penting, karena

hal ini secara langsung memengaruhi fungsi sistem kekebalan tubuh. Asam lemak tak jenuh merupakan komponen utama pembentuk membran sel, yang sangat rentan terhadap gangguan keseimbangan oksidan-antioksidan. Oleh karena itu, sel-sel imun memerlukan antioksidan dalam jumlah yang lebih banyak (Dwimayasanti, 2018).

Secara kimia, senyawa antioksidan merupakan pemberi elektron (donor elektron). Dari sudut pandang biologis, antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menangkal atau meredam efek negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan mendonasikan satu elektronnya kepada senyawa oksidan, sehingga aktivitas oksidan tersebut dapat dihambat. Tubuh memerlukan antioksidan untuk melindungi diri dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah senyawa atau komponen kimia yang, dalam kadar atau jumlah tertentu, mampu menunda atau mencegah proses oksidasi (Sayuti, 2015).

2.3.2 Sumber Antioksidan

a. Antioksidan Alami

Antioksidan alami berasal dari bahan nabati, seperti buah-buahan, sayur-sayuran, rempah-rempah dan herbal (Lourenço *et al.*, 2019). Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik polifungsional (Isnindar *et al.*, 2011).

b. Antioksidan Sintetik

Beberapa antioksidan sintetik yang lebih populer digunakan adalah senyawa fenolik seperti *butylated hydroxyanisol* (BHA), *terbutilasi hidroksi-toluena* (BHT), *butylhydroquinone tersier* (TBHQ), dan ester dari asam galat, misalnya *gallate propil* (PG). Antioksidan fenolik sintetis selalu diganti oleh alkil untuk meningkatkan kelarutannya dalam lemak dan minyak. Antioksidan sintetik telah diuji dengan sangat teliti oleh toksikologi, akan tetapi penggunaan dalam jangka panjang akan memberikan efek pada tubuh (Sayuti, 2015).

2.3.3 Manfaat Antioksidan

Antioksidan berperan untuk menjaga kualitas produk pangan serta mendukung kesehatan dan kecantikan. Di sektor kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah berbagai penyakit seperti kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, serta kondisi lainnya. Antioksidan juga efektif menghambat reaksi oksidasi melalui pengikatan radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi akibat radikal bebas sering menyerang molekul protein, asam nukleat, lipid, dan polisakarida (Sayuti, 2015).

Dalam industri pangan, antioksidan dapat dimanfaatkan untuk mencegah proses oksidasi yang berpotensi menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik

lainnya. Antioksidan sangat krusial sebagai inhibitor peroksidasi lipid, sehingga dapat digunakan untuk menghalangi terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan (Sayuti, 2015). Peroksidasi lipid merupakan reaksi kimia yang sering terjadi pada bahan pangan, menghasilkan asam, aroma tak sedap, dan zat toksik selama proses pengolahan dan penyimpanan, sehingga memengaruhi mutu serta keamanan produk pangan (Sayuti, 2015).

Risiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis, dan berbagai penyakit degeneratif lainnya dapat dikurangi dengan mengonsumsi antioksidan dalam jumlah yang memadai. Asupan makanan yang kaya antioksidan mampu meningkatkan status imunologis serta menghambat munculnya penyakit degeneratif yang disebabkan oleh proses penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal diperlukan oleh semua kelompok usia (Sayuti, 2015).

2.3.4 Mekanisme Antioksidan

Mekanisme antioksidan dalam menjaga keseimbangan redoks seluler dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh *spesies oksigen reaktif (ROS)*. ROS, termasuk radikal superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil, dihasilkan sebagai produk sampingan alami metabolisme seluler dan juga dapat diproduksi sebagai respons terhadap stresor lingkungan seperti radiasi UV, polusi, dan racun. Produksi *spesies oksigen reaktif (ROS)* yang berlebihan dapat membebani pertahanan antioksidan tubuh, yang menyebabkan stres oksidatif dan

kerusakan sel. Antioksidan bertindak sebagai penangkap *spesies oksigen reaktif (ROS)*, menetralkannya sebelum dapat merusak komponen seluler seperti protein, lipid, dan asam nukleat. Dengan menyumbangkan elektron atau atom hidrogen, antioksidan secara efektif memadamkan *spesies oksigen reaktif (ROS)* dan memutus reaksi berantai kerusakan oksidatif. Selain itu, antioksidan dapat mengkelat ion logam yang terlibat dalam pembentukan *spesies oksigen reaktif (ROS)*, menghambat peroksidasi lipid, dan meningkatkan enzim antioksidan endogen, yang selanjutnya meningkatkan ketahanan sel terhadap stres oksidatif. Pentingnya antioksidan melampaui perlindungan seluler dan mencakup implikasi yang lebih luas bagi kesehatan dan pencegahan penyakit (Murthy, 2024).

2.4 Metode Uji Aktivitas Antioksidan

2.4.1 *ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid)*

Metode *2,2'-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS)* merupakan salah satu cara untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan memanfaatkan senyawa *2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid* sebagai pembentuk radikal bebas. Senyawa *ABTS* berperan sebagai substrat dari enzim peroksidase yang dapat dioksidasi oleh hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi kation radikal. Reagen ini memiliki stabilitas kimia yang baik serta mampu larut dalam pelarut bersifat air maupun lemak. Prinsip metode ini yaitu melihat kemampuan senyawa

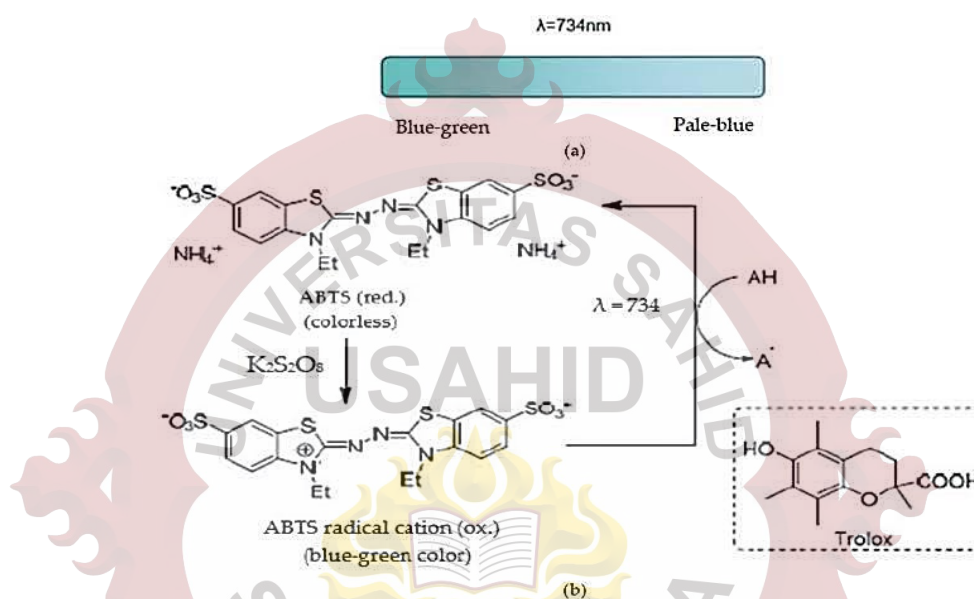
antioksidan dalam menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan proton kepada radikal bebas yang ditandai dengan pemudaran warna dari warna biru kehijauan menjadi tidak berwarna seiring tereduksinya kation radikal *ABTS* (Aryanti *et al.*, 2021).

Pengujian aktivitas antioksidan melalui metode *ABTS* bergantung pada pemudaran warna biru yang disebabkan oleh reduksi *ABTS* oleh senyawa antioksidan dalam sampel, yang tercermin dari berkurangnya intensitas warna biru. Pengukuran intensitas warna tersebut dilakukan pada panjang gelombang visible sebesar 750 nm (Safitri, 2023).

Prosedur pengujian ini mengandalkan kemampuan setiap substansi untuk menghasilkan kation radikal ($ABTS^+$) yang telah dimodifikasi. Pembentukan $ABTS^+$ dilakukan dengan mencampur larutan stok *ABTS* 7 mM bersama kalium persulfat 2,45 mM, kemudian menyimpan campuran tersebut di tempat gelap pada suhu ruangan selama 12-16 jam. Kation radikal *ABTS* yang dihasilkan memiliki penyerapan maksimum pada panjang gelombang beragam, yaitu 415 nm, 645 nm, 734 nm, dan 815 nm. Reagen *ABTS* ini mampu mempertahankan kestabilannya hingga tiga hari jika disimpan dalam kondisi gelap pada suhu 25°C. *ABTS* kerap dimanfaatkan oleh industri pangan untuk mengevaluasi kadar antioksidan dalam produk makanan (Safitri, 2023).

Kelebihan dari metode *ABTS* yaitu *ABTS* dapat bereaksi cepat dengan antioksidan, dapat digunakan pada rentang pH yang luas, dapat larut dalam air dan pelarut organik. Kekurangan dari metode tersebut

yaitu harga dari reagen *ABTS* mahal. Metode *ABTS* lebih baik daripada metode *DPPH* karena metode *ABTS* lebih sensitif daripada *DPPH* dan juga metode *ABTS* dapat digunakan pada tingkat pH yang berbeda sedangkan *DPPH* sensitif terhadap pH asam (Safitri, 2023).



Gambar 2.2 Reaksi Antioksidan dengan *ABTS* (Oliveira, 2014)

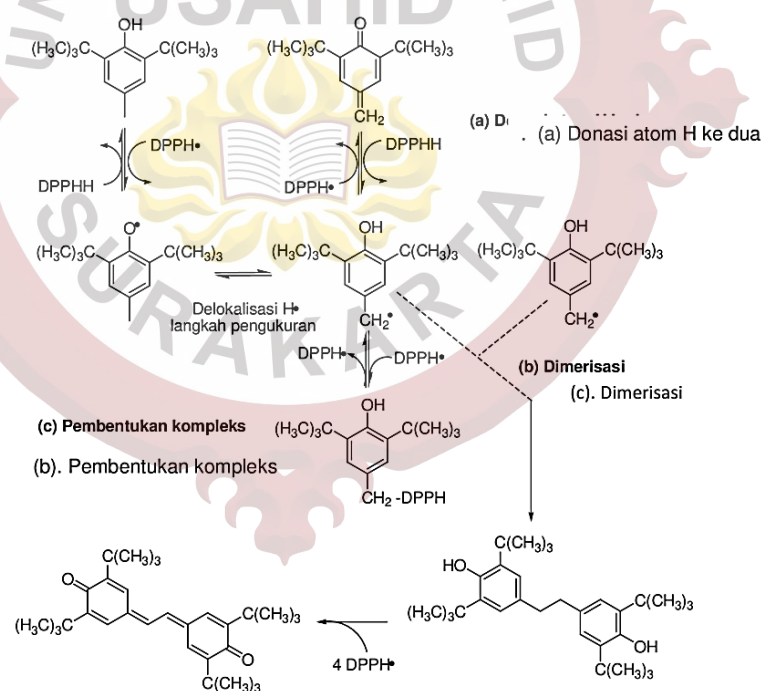
2.4.2 *DPPH* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; $C_{18}H_{12}N_5O_6$, $M=394.33$) adalah suatu radikal bebas dengan sifat yang stabil. Dalam pengujian dengan menggunakan metode *DPPH*, warna ungu yang dimiliki oleh *DPPH* akibat delokalisasi akan mengalami perubahan warna menjadi kuning hydrazine jika terjadi reaksi antara antioksidan dengan *DPPH*. Hal tersebut disebabkan oleh terjadinya proses reduksi yang mengakibatkan berkurangnya warna ungu pada *DPPH*. Pada proses reduksi, substrat akan menyumbangkan atom H ke radikal bebas. Metode pengujian ini

berfungsi untuk mengetahui potensi dari antioksidan pada suatu sampel dalam menangkal radikal bebas dimana dilakukan uji kuantitatif berupa proses skrining menggunakan alat spektrofotometri pada panjang gelombang maksimal. Metode pengujian *DPPH* dipengaruhi oleh cahaya, pH, pelarut yang digunakan, waktu inkubasi, ion organik, garam dan uhu. Pada penentuan aktivitas antioksidan dapat dilakukan menggunakan pengujian *DPPH* yang ditetapkan dengan parameter IC_{50} (*inhibition concentration*). Hasil dari nilai IC_{50} yang diperoleh dinyatakan sebagai konsentrasi antioksidan yang digunakan dalam mengurangi konsentrasi *DPPH* sebanyak 50%. Dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan pada suatu sampel, kemudian dikalkulasikan menggunakan *inhibition curve* (Mu'nisa, 2022).

Metode *DPPH* memiliki kelebihan seperti metode analisis dalam pengujian ini lebih sederhana, waktu yang singkat, lebih mudah serta sensitif terhadap sampel yang menggunakan konsentrasi rendah. Kekurangan pengujian *DPPH* yaitu keterbatasan dalam penggunaan pelarut karena *DPPH* memiliki kelarutan yang hanya larut dengan pelarut organik, sehingga ketika menganalisis senyawa hidrofilik akan sedikit sulit. *DPPH* sendiri banyak digunakan sebagai langkah utama untuk melakukan pengujian analisis aktivitas antioksidan karena dapat menunjukkan sistem pertahanan tubuh dalam meredam radikal bebas (Amnestiya *et al.*, 2023).

Mekanisme reaksi antara antioksidan dengan *DPPH* dibagi menjadi tiga tahap yang dicontohkan dengan menggunakan senyawa manofenolat. Tahap pertama adalah delokalisasi elektron pada gugus yang tersubstitusi dari senyawa tersebut. Adanya atom hidrogen akan menyebabkan *DPPH* menjadi tereduksi. Langkah berikutnya adalah dimerisasi antara dua radikal fenoksil yang mentransfer radikal hidrogen akan bereaksi lagi dengan radikal *DPPH*. Pembentukan kompleks antara radikal aril dengan *DPPH*. Pembentukan dimer maupun kompleks antara zat antioksidan dengan *DPPH* tergantung pada kestabilan dan potensial reaksi dari struktur molekulnya (Arrafie, 2018).



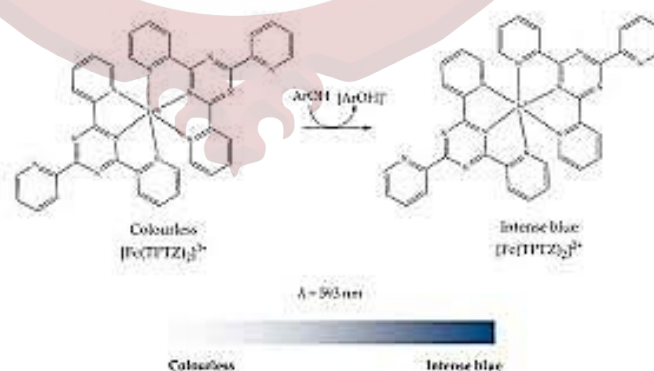
Gambar 2.3 Reaksi Mekanisme Antioksidan dengan *DPPH* (Chotimah, 2019)

2.4.3 FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) adalah metode analisa yang umumnya diterapkan dalam pengukuran kemampuan antioksidan

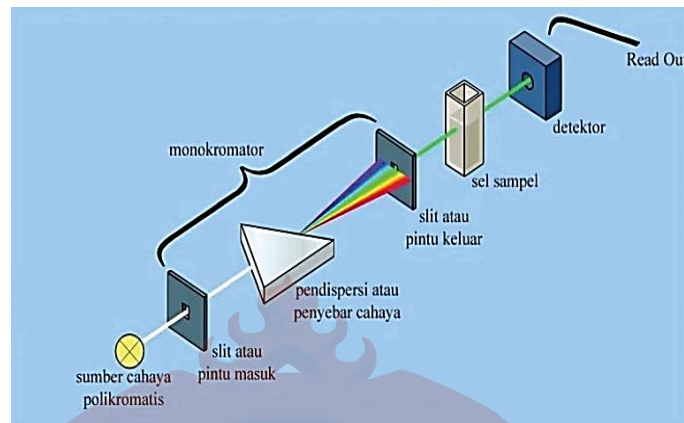
untuk mereduksi Fe(III)-TPTZ (*ferri-tripyridyl-triazine*) menjadi Fe(II)-TPTZ yang dapat ditandai dengan berubahnya warna kuning menjadi warna biru. TPTZ merupakan colorants dan Fe(III) adalah radikal bebas. Pengujian kemampuan antioksidan dilakukan dengan metode *FRAP* tidak memerlukan perlakuan pre treatment karena dipandang konstan dan linear terhadap hasil pengujian. Metode ini mampu melakukan pengukuran terhadap kombinasi efek antioksidan dari senyawa biologi non-enzim. Kemudian mampu memberi indeks dalam menurunkan efek oksidatif dari radikal bebas (Mu'nisa, 2022).

Kelebihan dari metode ini yaitu metode yang murah, cepat serta reagen yang digunakan cukup sederhana dan tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan (Sukmawati Syarif, Rachmat Kosman, 2015) Sedangkan kekurangan dari metode *FRAP* yaitu sensitivitas yang lebih rendah dibandingkan metode *DPPH* (Putri *et al.*, 2016).



Gambar 2.4 Reaksi Mekanisme Antioksidan dengan *FRAP* (Kurniasari *et al.*, 2022)

2.5 Spektrofotometer *UV-Vis*



Gambar 2.5 Alat Spektrofotometer *UV-Vis* (single beam)

Spektrofotometri *UV-Vis* merupakan metode analisis yang digunakan untuk mengukur besaran energi yang diserap (absorpsi) atau energi yang ditransmisikan melalui sampel. Teknik ini secara khusus menentukan tingkat energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Nilai absorpsi dipengaruhi oleh konsentrasi zat dalam sampel, di mana semakin banyak molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, maka nilai absorpsi semakin tinggi. Dengan demikian, nilai absorpsi berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung di dalam sampel (Mubarokah *et al.*, 2023). Teknik ini memiliki keunggulan berupa biaya analisis yang relatif rendah serta waktu pengujian yang lebih singkat dibandingkan dengan metode analisis lainnya (Safitri, 2023).

Prinsip kerja Spektrofotometer *UV-Vis* yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I), sebagian dipantulkan (I_R), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t). Dasar pengukuran spektrofotometer dalam aplikasinya adalah Hukum *Lambert-Beer*, yang menyatakan bahwa ketika cahaya monokromatis dilewatkan melalui

media transparan, intensitas cahaya yang ditransmisikan berbanding lurus dengan ketebalan media serta kepekaan larutan yang dipakai (Yanlinastuti & Fatimah, 2016).

Metode spektrofotometri *UV-Vis* memiliki keunggulan dalam menentukan kuantitas zat yang sangat kecil, dengan hasil pengukuran yang cukup akurat. Nilai yang terbaca oleh detektor dapat langsung dicatat dan dicetak dalam format angka digital atau grafik yang telah melalui regresi (Mubarokah *et al.*, 2023).

Spektrofotometri *UV-Vis* dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

- a. Harus melarutkan sampel dengan sempurna
- b. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
- c. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
- d. Kemurniannya harus tinggi

(Suhartati, 2017)

2.6 Landasan Teori

Passiflora edulis Sims. (markisa ungu) merupakan tumbuhan yang menjalar berasal dari luar negeri, tergolong ke dalam tanaman genus *Passiflora*,

berasal dari daerah tropis dan subtropis di Amerika. Di Indonesia, terdapat dua jenis markisa, yaitu Markisa Ungu (*Passiflora edulis* Sims.) yang tumbuh di dataran tinggi, dan Markisa Kuning (*Passiflora flavicarva*) dan tumbuh di dataran rendah. Buah markisa (*Passiflora edulis*) adalah salah satu jenis buah-buahan yang tumbuh subur di Indonesia, khususnya di Sumatera Utara dan Sulawesi Selatan (Pratama *et al.*, 2022). Buah markisa ungu (*Passiflora edulis* var. *edulis*) mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan, di antaranya karotenoid, flavonoid, antosianin, serta vitamin C. Senyawa-senyawa ini, terutama flavonoid, antosianin, dan vitamin C, berfungsi sebagai donor elektron yang mampu menetralkan radikal bebas sehingga mencegah terjadinya stres oksidatif. Kandungan bioaktif tersebut menjadikan markisa ungu memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Kusumah *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya mengenai aktivitas antioksidan ekstrak *Passiflora edulis* Sims. (markisa ungu) pada bagian biji dan sari buah dilakukan dengan menggunakan dua jenis pelarut, yaitu etanol 70% dan metanol 70%, melalui metode maserasi. Aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode *DPPH* (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut etanol 70% menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan metanol 70% pada bagian biji maupun sari buah. Nilai IC_{50} ekstrak biji yang diperoleh menggunakan etanol sebesar $83,85 \pm 4,66$ mg/L, sedangkan ekstrak biji yang menggunakan metanol memiliki nilai IC_{50} sebesar $173,46 \pm 5,60$ mg/L. Pada sari buah, ekstrak etanol menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $305,47 \pm$

5,28 mg/L, sementara ekstrak metanol memiliki nilai IC_{50} sebesar $508,21 \pm 4,38$ mg/L. Perbedaan nilai IC_{50} tersebut menunjukkan bahwa etanol merupakan pelarut yang lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa antioksidan dari markisa ungu (Izzat *et al.*, 2022)

Penelitian yang dilakukan oleh Ariastuti *et al.*, (2025) ekstrak etanol 96% dari pulp dan biji buah markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims.) memiliki nilai IC_{50} sebesar 751,32 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak etanol 50% menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 1.468,92 $\mu\text{g/mL}$. Kedua jenis ekstrak tersebut diketahui mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, dan steroid. Keduanya termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan lemah, ekstrak etanol 96% dinilai lebih efektif karena mampu mengekstraksi flavonoid dalam jumlah yang lebih tinggi.

Flavonoid adalah jenis senyawa fenolik yang ada di alam yang memiliki bioaktivitas dan potensi sebagai antioksidan. Flavonoid, antioksidan eksogen yang mengandung gugus fenolik, memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena strukturnya yang memungkinkan mereka untuk mengubah atau mengurangi radikal bebas, serta sebagai antiradikal bebas. Sebagai antioksidan, flavonoid mendonorkan ion hidrogen, yang memungkinkan mereka untuk menstabilkan radikal bebas yang reaktif (Safitri, 2023). Kandungan flavonoid, antosianin, dan procyanidin dalam markisa ungu ternyata lebih tinggi dibandingkan dengan yang ada pada markisa kuning. polisakarida yang terkandung dalam kulit *Passiflora edulis* Sims. menunjukkan potensi sebagai

agen antitumor secara *in vitro*, dan flavonoid di dalamnya berpotensi berperan sebagai antioksidan (Passion *et al.*, 2022).

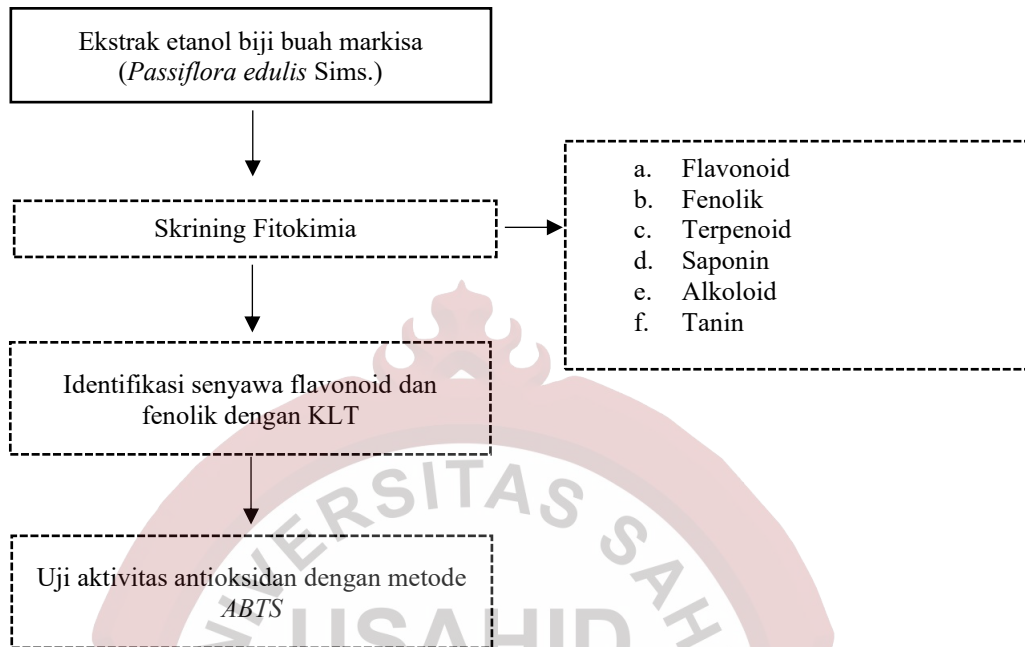
Mekanisme antioksidan dalam menetralkan radikal bebas yaitu dengan cara mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga radikal bebas menjadi stabil dan tidak merusak sel. Selain itu, antioksidan juga menghambat pembentukan *Reactive Oxygen Species (ROS)*, menghancurkan *ROS* yang telah terbentuk serta mengaktifkan enzim antioksidan endogen seperti superoksida dismutase (*SOD*), katalase (*CAT*), dan glutathion peroksida (*GPx*), antioksidan mampu mencegah stres oksidatif (Ayu *et al.*, 2024).

Metode yang dapat digunakan untuk menguji adanya aktivitas antioksidan adalah *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS)* untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan memanfaatkan senyawa *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid* sebagai pembentuk radikal bebas. Senyawa *ABTS* berperan sebagai substrat dari enzim peroksidase yang dapat dioksidasi oleh hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi kation radikal. Reagen ini memiliki stabilitas kimia yang baik serta mampu larut dalam pelarut bersifat air maupun lemak (Aryanti *et al.*, 2021). Metode *ABTS* dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*. Cara efektif yang dapat digunakan untuk menganalisis struktur flavonoid ialah serapan tampak dan spektrum serapan ultraviolet. Pengujian aktivitas antioksidan melalui metode *ABTS* bergantung pada pemudaran warna biru yang disebabkan oleh reduksi *ABTS* oleh senyawa antioksidan dalam sampel, yang tercermin dari berkurangnya intensitas warna biru (Safitri, 2023).

Kelebihan dari metode *ABTS* yaitu *ABTS* dapat bereaksi cepat dengan antioksidan, dapat digunakan pada rentang pH yang luas, dapat larut dalam air dan pelarut organik. Metode *ABTS* lebih baik dari pada metode *DPPH* karena metode *ABTS* lebih sensitif dari pada *DPPH* dan juga metode *ABTS* dapat digunakan pada tingkat pH yang berbeda sedangkan *DPPH* sensitif terhadap pH asam (Safitri, 2023).

Berdasarkan informasi tersebut, biji buah markisa ungu (*Passiflora edulis*) diketahui memiliki potensi sebagai sumber senyawa antioksidan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji buah markisa ungu menggunakan metode *ABTS* (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*), yang digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa dalam meredam radikal bebas.

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

Variabel Bebas :



Variabel Terikat :



2.8 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang diatas dan tinjauan pustaka yang dijelaskan diatas, maka dapat diambil dugaan sementara sebagai berikut.

H₀ : Tidak memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biji buah markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims.).

H₁ : Memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biji buah markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims.).