**BAB II**

# TINJAUAN PUSTAKA

## **2.1 Uraian Tumbuhan**

### **2.1.1 Klasifkasi Daun Bidara *(Ziziphus mauritiana*** Lam***)***



**Gambar 2.2 Daun Bidara *(Ziziphus mauritiana* Lam*)*** (Dok.Pribadi,2024)

Menurut Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara, tumbuhan Daun Bidara ***(Ziziphus mauritiana* Lam*)*** memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Rosales

Famili : Rhamnaceae

Genus : Ziziphus

Spesies : *Ziziphus mauritiana* Lam*.*

Nama lokal : Daun Bidara

### **2.1.2 Morfologi Daun Bidara *(Ziziphus mauritiana* Lam*)***

Bidara merupakan tumbuhan yang mampu bertahan hidup pada lingkungan yang agak kering, dapat pula tumbuh dilahan tanah basa, tanah asin atau sedikit asam. Tingginya mencapai 1,5 m, tumbuh tegak atau menyebar dengan cabang – cabangnya yang menjuntai pohon bidara termasuk tanaman yang berduri, durinya terletak pada ranting yang simpang siur. Daunnya selalu hijau atau setengah meranggas, bidara termasuk kedalam tanaman lengkap yang memiliki bunga, buah, batang, akar dan daun. Tanaman bidara memiliki nama latin *Ziziphus mauritiana* Lamk. Dikenal dengan beberapa nama daerah yaitu Widara (Jawa,Sunda), Rangga (Bima), Kalangga (Sumba) dan Bekul (Bali), Kom (Kupang) (Raharjeng & Masliyah, 2020).

Berikut ini adalah berbagai ciri-ciri pohon bidara Arab asli yang dikutip dari buku Hukum Islam Agroteknologi: Studi Takhrij dan Syarah Hadi karya Wahyudin Darmalaksana (2023:432).

1. Akar

Pohon bidara Arab merupakan tanaman perdu yang memiliki akar tunggang. Makanya, tumbuhan ini bisa tumbuh hanya dengan menggunakan biji yang kemudian berkecambah hingga menjadi pohon bidara yang utuh. Akar tunggang pada pohon bidara berfungsi untuk mencari bahan fotosintesis dalam bentuk air serta berbagai zat hara yang ada di dalam tanah.

1. Batang

Batang pohon bidara Arab mempunyai banyak duri yang berfungsi sebagai alat untuk mempertahankan diri. Tak hanya itu, duri pada batang pohon ini juga dapat memudahkan proses adaptasi tanaman terhadap lingkungan sekitar. Adapun jenis duri yang ada pada pohon bidara merupakan duri sejati yang sulit lepas secara alami. Dui ini berukuran panjang dan sangat tajam. Hal inilah yang menjadi perbedaan bidara Arab dengan bidara apel India ataupun bidara Cina.

1. Buah

Ciri-ciri dari pohon bidara Arab asli lainnya bisa terlihat ketika tanaman sudah berbuah. buah pada pohon bidara Arab asli berukuran 2 cm dan berbentuk bulat. Hal inilah yang membuatnya kerap disebut sebagai buah kelereng. Ketika masih muda, buah ini berwarna hijau. Namun, akan berubah menjadi merah ketika sudah matang.

### **2.1.3 Kandungan kimia Daun Bidara *(Ziziphus mauritiana* Lam*)***

Tanaman bidara merupakan tanaman yang memiliki banyak khasiat dan sudah digunakan untuk obat herbal dibeberapa Negara dan telah diteliti secara klinis kandungan yang terdapat didalamnya seperti kandungan senyawa alkaloid, glikosida, saponin, flavanoid, terpenoid dan fenolik serta aktifitas antioksidan yang paling baik pada daunnya (Sakka & Muin, 2023).

## **2.2 Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60 OC (Kemenkes RI,2017).

Menurut “Materia Medika Indonesia” simplisia dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu; simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral (Depkes RI, 1995). Simplisia Nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (Kemenkes RI,2017).

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut (Agoes,2010) :

1. Pengumpulan bahan baku

Kadar bahan aktif dalam simplisia bergantung pada bagian tanaman yang digunakan, usia tanaman atau bagian tanaman saat panen, waktu panen dan lingkungan tumbuh.

1. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan cemaran (kotoran dan bahan asing lain) dari bahan simplisia. Pembersihan simplisia dari tanah dapat mengurangi jumlah kontaminasi mikrobiologi.

1. Pencucian

Pencucian dilakukan dengan air bersih (sumur, PAM, atau dari mata air). Simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air mengalir, dicuci dalam waktu sesingkat mungkin. Dalam satu kali pencucian sayur- mayor akan dapat menghilangkan lebih kurang 25% jumlah mikroba awal. Jadi, penting sekali diperhatikan kualitas air pencucian yang digunakan bakteri yang umum terdapat dalam air adalah Pseudomonas, Proteus, Mikrococcus, Basillus, Streptococcus, Enterobacter dan Escherichia pada simplisia akar, batang atau buah. Untuk mengurangi jumlah mikroba awal dapat dilakukan pengupasan kulit luar.

1. Perajangan

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru dipanen, sebelum dirajang, terlebih dahulu dijemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau atau mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran tertentu.

1. Pengeringan

Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan untuk jangka waktu lebih lama. Dengan penurunan kadar air, hal tersebut dapat menghentikan reaksi enzimatik sehingga dapat dicegah terjadinya penurunan mutu atau perusakan simplisia. Suhu pengeringan bergantung pada simplisia dan cara pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan antara suhu 30°-90°C (terbaik 60°C). Jika simplisia mengandung bahan aktif tidak tahan panas atau mudah menguap, pengeringan dilakukan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30° - 45°C atau dengan cara pengeringan vakum.

1. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang masih ada atau tertinggal pada simplisia kering. Proses ini sebaiknya dilakukan sebelum pengemasan simplisia.

1. Pengepakan dan penyimpanan

Simplisa dapat rusak atau berubah mutunya karena faktor internal dan eksternal simplisia, seperti cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intenal dehidrasi, penguapan air, pengotoran, serangga, kapang dan pemeriksaan mutu.

**2.3 Teh Hebal**

### **2.3.1 Definisi Teh Herbal**

Teh merupakan minuman sehat yang telah dikenal sejak sekitar 5000 tahun yang lalu di negeri Cina. Pada awalnya, tertulis dalam suatu riwayat, teh diperkenalkan oleh seorang Kaisar Cina. Ketika itu, ke dalam cawan air panas Sang Kaisar Shen Nung yang sedang bersantai di kebun istana jatuh beberapa pucuk daun teh. Selanjutnya Kaisar menyadari adanya perbedaan rasa pada air tersebut. Dikisahkan setelah kejadian tersebut, ia berani merekomendasikan bahwa teh memiliki unsur menyembuhkan beragam penyakit seperti ginjal, demam, infeksi, dan tumor di kepala (Winarti, 2010).

Resep Sang Kaisar tersebut tampaknya terlalu berlebihan. Namun, para peneliti di bidang kesehatan kini mampu membuktikan khasiat sehat teh yang dapat memberikan daya kekebalan tubuh untuk melawan berbagai penyakit serta memperpanjang usia (Winarti, 2010).

Teh (Camellia sinensis) merupakan tanaman asli Asia Tenggara dan kini telah ditanam di lebih dari 30 negara. Dari 3.000 jenis yang ada, pada prinsipnya teh berasal dari satu jenis tanaman dengan hasil perkawinan silangnya Teh merupakan salah satu minuman yang paling populer di dunia, dan posisinya berada pada urutan ke dua setelah air. Dengan perkembangannya ke berbagai belahan dunia, teh telah menjadi bagian yang menyatu dengan tradisi setempat. Di Beijing, Cina, para peminum teh lebih menyukai bila diaromai dengan wangi bunga melati yang kuat dengan cara "membakar" daun teh terlebih dahulu dengan uap panas bunga melati segar. Lain halnya dengan di Mongolia dan Inggris, peminum teh lebih menyukai teh yang dicampur dengan susu sewaktu sarapan pagi. Dan bagi sebagian besar orang Indonesia teh bukanlah minuman yang asing karena telah menjadi bagian dari budayanya (Winarti, 2010).

Teh adalah minuman yang mengandung kafein, sebuah infusi yang dibuat dengan cara menyeduh daun, pucuk daun, atau tangkai daun yang dikeringkan dari tanaman Camellia sinensis dengan air panas. Teh yang berasal dari tanaman teh dibagi menjadi 4 kelompok yaitu teh hitam, teh oolong, teh hijau, dan teh putih.

Istilah "teh" juga digunakan untuk minuman yang dibuat dari buah, rempah-rempah atau tanaman obat lain yang diseduh, misalnya, teh rosehip, camomile, krisan dan Jiaogulan. Teh yang tidak mengandung daun teh disebut teh herbal. Teh merupakan sumber alami kafein, teofilin dan antioksidan dengan kadar lemak, karbohidrat atau protein mendekati nol persen. Teh bila diminum terasa sedikit pahit yang merupakan kenikmatan tersendiri dari teh (Winarti, 2010).

Teh bunga dengan campuran kuncup bunga melati yang disebut teh melati atau teh wangi melati merupakan jenis teh yang paling populer di Indonesia. Konsumsi teh di Indonesia sebesar 0,8 kilogram per kapita per tahun masih jauh di bawah negara-negara lain di dunia, walaupun Indonesia merupakan negara penghasil teh terbesar nomor lima di dunia (Winarti, 2010).

Teh dikelompokkan berdasarkan cara pengolahan. Daun teh Camellia sinensis segera layu dan mengalami oksidasi kalau tidak segera dikeringkan setelah dipetik. Proses pengeringan membuat daun menjadi berwarna gelap, karena terjadi pemecahan klorofil dan terlepasnya unsur tanin. Proses selanjutnya berupa pemanasan basah dengan uap panas agar kandungan air pada daun menguap dan proses oksidasi bisa dihentikan pada tahap yang sudah ditentukan (Winarti, 2010).

Pengolahan daun teh sering disebut sebagai "fermentasi" walaupun sebenarnya penggunaan istilah ini tidak tepat. Pemrosesan teh tidak menggunakan ragi dan tidak ada etanol yang dihasilkan seperti layaknya ﻿proses fermentasi yang sebenarnya. Pengolahan teh yang tidak benar memang bisa menyebabkan teh ditumbuhi jamur yang mengakibatkan terjadinya proses fermentasi. Teh yang sudah mengalami fermentasi dengan jamur harus dibuang, karena mengandung unsur racun dan unsur bersifat karsinogenik (Winarti, 2010).

### **2.3.2 Pengelompokan Teh Herbal Berdasarkan Tingkat Oksidasi**

Pengelompokan teh berdasarkan tingkat oksidasi, sebagai berikut (Winarti 2010):

1. Teh putih

Teh yang dibuat dari pucuk daun yang tidak mengalami proses oksidasi dan sewaktu belum dipetik dilindungi dari sinar matahari untuk menghalangi pembentukan klorofil. Teh putih diproduksi dalam jumlah lebih sedikit dibandingkan teh jenis lain sehingga harga menjadi lebih mahal. Teh putih kurang terkenal di luar Tiongkok, walaupun secara perlahan-lahan teh putih dalam kemasan teh celup juga mulai populer (Winarti, 2010).

1. Teh hijau

Daun teh yang dijadikan teh hijau biasanya langsung diproses setelah dipetik. Setelah daun mengalami oksidasi dalam jumlah minimal, proses oksidasi dihentikan dengan pemanasan (cara tradisional Jepang dengan menggunakan uap atau cara tradisional Tiongkok dengan menggongseng di atas wajan panas). Teh yang sudah dikeringkan bisa dijual dalam bentuk lembaran daun teh atau digulung rapat berbentuk seperti bola-bola kecil (teh yang disebut gun powder) (Winarti, 2010).

1. Oolong

Proses oksidasi dihentikan di tengah-tengah antara teh hijau dan teh hitam yang biasanya memakan waktu 2-3 hari (Winarti, 2010).

1. Teh hitam atau teh merah

Daun teh dibiarkan teroksidasi secara penuh sekitar 2 minggu hingga 1 bulan. Teh hitam merupakan jenis teh yang paling umum di Asia Selatan (India, Sri Langka, Bangladesh) dan sebagian besar negara-negara di Afrika seperti: Kenya, Burundi, Rwanda, Malawi dan Zimbabwe. Terjemahan harafiah dari aksara hanzi untuk teh bahasa Tionghoa atau dalam bahasa Jepang adalah "teh merah" karena air teh sebenarnya berwarna merah. Orang Barat menyebutnya sebagai "teh hitam" karena daun teh berwarna hitam. Di Afrika Selatan, "teh merah" adalah sebutan untuk teh rooibos yang termasuk golongan teh herbal. Teh hitam masih dibagi menjadi 2 jenis yaitu Ortodoks (teh diolah dengan metode pengolahan tradisional) atau CTC (metode produksi teh Crush, Tear, Curl yang berkembang sejak tahun 1932). Teh hitam yang belum diramu (unblended) dikelompokkan berdasarkan asal perkebunan, tahun produksi, dan periode pemetikan (awal musim semi, pemetikan ke dua, atau musim gugur). Teh jenis Ortodoks dan CTS masih dibagi-bagi lagi menurut kualitas daun pasca produksi sesuai standar Orange Pekoe (Winarti, 2010).

1. Pu-erh (Póu léi dalam bahasa Kantonis)

Teh pu-erh terdiri dari dua jenis yaitu "mentah" dan "matang." Teh pu-erh yang masih "mentah" bisa langsung digunakan untuk dibuat teh atau disimpan beberapa waktu hingga "matang". Selama penyimpanan, teh pu-erh mengalami oksidasi mikrobiologi tahap ke dua. Teh pu-erh "matang" dibuat dari daun teh yang mengalami oksidasi secara artifisial supaya menyerupai rasa teh pu-erh "mentah" yang telah lama disimpan dan mengalami proses penuaan alami. Teh pu-erh "matang" dibuat dengan mengontrol kelembaban dan temperatur daun teh mirip dengan proses pengomposan. Teh pu-erh biasanya dijual dalam bentuk padat setelah dipres menjadi seperti batu bata, piring kecil atau mangkuk. Teh pu-erh dipres agar proses oksidasi tahap ke dua bisa berjalan, karena teh pu-erh yang tidak dipres tidak akan mengalami proses pematangan. Semakin lama disimpan, aroma teh pu-erh menjadi semakin enak. Teh pu-erh yang masih "mentah" kadang- kadang disimpan sampai 30 tahun bahkan 50 tahun supaya matang. Pakar bidang teh dan penggemar teh belum menemui kesepakatan soal lama penyimpanan yang dianggap optimal. Penyimpanan selama 10 hingga 15 tahun sering dianggap cukup, walaupun teh pu-erh bisa saja diminum setelah disimpan kurang dari setahun. Minuman teh pu-erh dibuat dengan merebus daun teh pu-erh di dalam air mendidih seringkali hingga lima menit. Orang Tibet mempunyai kebiasaan minum teh pu-erh yang dicampur dengan mentega dari lemak yak, gula dan garam (Winarti, 2010).

1. Teh kuning

Sebutan untuk teh berkualitas tinggi yang disajikan di istana kaisar atau teh yang berasal dari daun teh yang diolah seperti teh hijau tapi dengan proses pengeringan yang lebih lambat (Winarti, 2010).

1. Kukicha

Teh kualitas rendah dari campuran tangkai daun dan daun teh yang sudah tua hasil pemetikan ke dua, dan digongseng di atas wajan (Winarti, 2010).

1. Genmaicha

Teh hijau bercampur berondong dari beras yang belum disosoh, beraroma harum dan sangat populer di Jepang (Winarti, 2010).

1. Teh bunga

Teh hijau atau teh hitam yang diproses atau dicampur dengan bunga. Teh bunga yang paling populer adalah teh melati (Heung Pín dalam bahasa Kantonis, Hua Chá dalam bahasa Tionghoa) yang merupakan campuran teh hijau atau teh oolong yang dicampur bunga melati. Bunga-bunga lain yang sering dijadikan campuran teh adalah mawar, seroja, leci dan seruni (Winarti, 2010).

Teh juga sering dikaitkan dengan kegunaannya untuk kesehatan. Teh hijau dan teh pu-erh sering digunakan untuk diet. Orang juga sering menghubung-hubungkan teh dengan keseimbangan yin yang. Teh hijau cenderung yin, teh hitam cenderung yang, sedangkan teh oolong dianggap seimbang. Teh pu-erh yang berwarna coklat dianggap mengandung energi yang dan sering dicampur bunga seruni yang memiliki energi yin agar seimbang (Winarti, 2010).

Sebagian besar merek teh yang dijual di pasaran merupakan hasil ramuan ahli teh yang membuat blend yang unik untuk merek tersebut dari berbagai daun teh yang berbeda. Rasa enak dari teh berkualitas tinggi dan berharga mahal biasanya bisa menutupi rasa teh yang berkualitas rendah, sehingga kualitas teh bisa meningkat dan dapat dijual dengan harga yang lebih pantas. Teh hasil ramuan juga menjaga agar rasa teh yang dimiliki merek tertentu tetap stabil sepanjang masa (Winarti, 2010).

Teh melati dibuat dengan mencampur kuncup melati yang siap mekar. Sebelum dicampur dengan kuncup melati, daun teh mengalami proses pelembaban agar harum melati dapat menempel pada daun teh (Winarti, 2010).

### **2.3.3 Komponen Bio-aktif dalam Teh**

Teh merupakan *functional food* mengingat khasiat dan potensi yang terkandung di dalam teh dapat meningkatkan kesehatan tubuh dan merupakan sumber zat gizi. Mengingat biaya kesehatan yang melambung tinggi dalam krisis ekonomi yang belum juga berangsur pulih serta harga obat-obatan yang sudah tak terjangkau lagi oleh kocek rakyat biasa, maka obat pun sekarang dapat disetarakan dengan barang mewah. Dengan demikian, mempertahankan kesehatan merupakan sesuatu yang sangat berharga dan tak ternilai. Dalam upaya menjaga kesehatan tersebut, perilaku hidup sehat menjadi begitu penting untuk dilakukan (Winarti, 2010).

Teh mengandung sejenis antioksidan yang bernama katekin. Pada daun teh segar, kadar katekin bisa mencapai 30% dari berat kering. Teh hijau dan teh putih mengandung katekin yang tinggi, sedangkan teh hitam mengandung lebih sedikit katekin karena katekin hilang dalam proses oksidasi. Teh juga mengandung kafein (sekitar 3% dari berat kering atau sekitar 40 mg per cangkir), teofilin dan teobromin dalam jumlah sedikit (Winarti, 2010).

Daun teh unggulan mengandung senyawa bioaktif Polifenol, yang mengandung senyawa flavonoid, tannin, kafein dan asam fenalat juga mengandung Vitamin B1, B2, C, E dan K. serta kaya mineral fluor, mangan, kalsium, potassium dan kalium. Senyawa katekin yang berada dalam senyawa flavonoid mengandung: *Epikatekin* (EC), *Epikatekin Galat* (ECG), *Epigalo Katekin* (EGC), *Epigalo Katekin Galat* (EGCG) dan *Quercetin* (Winarti, 2010).

Teh mengandung komponen volatile sebanyak 404 macam dalam teh hitam dan sekitar 230 macam dalam teh hijau. Komponen volatile tersebut berperan dalam memberikan cita rasa yang khas pada teh. Komponen aktif yang terkandung dalam teh, baik yang volatile maupun yang non volatile antara lain sebagai berikut (Winarti, 2010).

**Tabel 2.1** Komponen Aktif dalam Teh

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | Komponen | Konsentrasi |
| 1. | Polifenol | 10-25% |
| 2. | *Methylxanthines* | - |
| 3. | Asam amino | - |
| 4. | Peptida | - |
| 5. | Komponen organik lain | - |
| 6. | Asam tanik | 9-20% |
| 7. | Vitamin C | 150-250 mg% |
| 8. | Vitamin E | 25-70% |
| 9. | Vitamin K | 300-500 IU/g |
| 10. | β-karoten | 13-20% |
| 11. | Kalium | 1795 mg% |
| 12. | Magnesium | 192 mg% |
| 13. | Mangan | 300-600 µg/ml |
| 14. | Fluor | 0,1-4,2 mg/L |
| 15. | Zinc | 5,4 mg% |
| 16. | Selenium | 1,0-1,8 ppm% |
| 17. | Koper | 0,01 mg% |
| 18. | Iron | 33 mg% |
| 19. | Kalsium | 7 mg% |
| 20. | Kafein | 45-50 mg% |

## **2.4 Kombucha**

### **2.4.1 Definisi Kombucha**

Kombucha adalah minuman fungsional yang sudah dikenal sejak jaman dahulu di berbagai negara seperti China, Rusia, dan Jerman. Minuman fungsional adalah suatu minuman yang tidak hanya bernilai gizi dan kenampakan yang menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh (Goldberg, 2002 dalam Nurdjanah et al, 2015). Misalnya produk susu probiotik tradisional yogurt, kefir, coumiss dan produk-produk baru seperti *BioSeven* dan yakult. Minuman fermentasi tersebut telah banyak diteliti dan secara signifikan memberikan banyak manfaat kesehatan.

Kombucha adalah produk minuman hasil fermentasi larutan teh dan gula menggunakan *starter* Kombucha atau *Tea Fungus*. Minuman Kombucha berasal dari China dan dikenalkan ke beberapa Negara seperti Rusia, Korea dan Jepang oleh Doctor Kumbu. Minuman ini sangat terkenal di negara-negara tersebut karena mempunyai manfaat kesehatan dalam menstimulasi sistem imun tubuh, meningkatkan sistem pencernaan dan fungsi hati.

*Tea Fungus* merupakan simbiosis antara bakteri dan yeast (*khamir*) dalam struktur selulosa. Selama fermentasi dalam larutan teh dan gula, simbiosis bakteri dan khamir ini akan memproduksi berbagai enzim, asam asetat, asam carbonat, asam folat, asam glukonat, asam glukoronat, L(+) Laktat, berbagai asam amino, fruktosa, karbon dioksida, dan sejumlah kecil alkohol (0.5-1%), Vitamin C (dari asam laktat) (Nurdjanah et al, 2015)

Kombucha juga mengandung senyawa-senyawa organik yang bermanfaat bagi tubuh yaitu vitamin B kompleks, asam organik, dan senyawa lain yang berfungsi sebagai antibiotik. Kombucha memiliki berbagai efek kesehatan, antara lain sebagai antibiotik, melancarkan pencernaan, antioksidan, dan antibakteri. Senyawa yang terkandung didalam minuman kombucha dapat dimanfaatkan sebagai bahan antimikroba (Nurdjanah et al, 2015).

### **2.4.2 Kandungan dan Manfaat Kombucha**

1. Vitamin B1

Tiamin atau vitamin B1 berguna untuk metabolismenya karbohidrat yang akan membentukan ATP. Cukupnya tiamin yang terkait oleh, kebutuhan tiap 1.000 kkl. Kekurangan vitamin B1 mengakibatkan penyakit beri-beri. Vitamin B1 tidak dapat menyimpannya dengan banyak untuk tubuh hanya dengan jumlah sedikit letak tersimpannya yaitu ginjal, hati, otak, otot. Vitamin B1 terlalu banayak dikomsumsi akan di buang atau dikeluarkan oleh urin. Pada dasarnya, vitamin B1 berperannya menjadi koenzim, dalam reaksi akan menghasilkannya ATP melalui karbohidrat dan akan di transfer energinya untuk menghasilkan banyak energi (Jamilah, 2019).

1. Vitamin B2

Riboflavin digunakan untuk proses asam amino, karbohidrat, lemak yang akan menghasilkanya energi. Riboflavin juga akan di simpan di tubuh hanya sebagiannya saja di ginjal, hati. Roboflavin biasanya menyerang usus kecil. Kelebihan vitamin B2 dibuang bersama urin yang biasanya berwarna kuning kehijauan pada urin (Jamilah, 2019).

1. Vitamin B3

Niasin diperlukan dan dibutuhkan untuk metabolism dan hasil akhirnya yaitu ATP. Vitamin ini dibutuhkan oleh lemak dan dapat menurunkannya lemak (Jamilah, 2019).

1. Vitamin B6

Piridoksin didapatkan dari tumbuhan, kalau dari hewan yaitu peridoksamin, perodoksal. Orang yang berusia lanjut atau umur 40 tahun lebih akan membutuhkan suplemen vitamin B6 karena upaya penyerapan piridosin ini akan terdapat di sistem pencernaan orang yang lebih tua (Jamilah, 2019).

1. Vitamin B12

Vitamin B12 dibantu asam folat berfungsi dan untuk metabolismenya antar sel pada tubuh. Apabila kekurangan vitamin B12 akan terjadinya lamban dalam pertumbuhannya membuat perkembangan tubuh menjadi lambat, ditandai dengan ciri-ciri anemia (Jamilah, 2019).

1. Vitamin B15

Vitamin B15 atau asam pengamik, vitamin ini asalnya dari asam-asam amino glycine. Vitamin B15 peranya adalah oksigenerator jaringan-jaringan pada tubuh menangkap radikal bebas (Jamilah 2019)

1. Asam Askorbat

Asam askorbat (vitamin C) adalah salah satu kandungan nutrisi penting yang membantu mengatur mengurangi kadar kolestrol dan mengatur tekanan darah. Sifat antioksidan vitamin C memainkan peran penting dalam meningkatkan imun tubuh. Fungsi utama asam askorbat adalah dalam sintesis kolagen dan akibatnya dalam pembentukan dan pemeliharaan tulang rawan, gusi, kulit, gigi, tulang, dan lain lain (Kannan et al., 2021).

Vitamin C yang cukup esensial sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas, akan terus meningkat dari waktu ke waktu (Puspito et al., 2015).

Pada sampel daun bidara yang dijemur di bawah sinar matahari dan yang dikeringkan di dalam lemari dapat mempertahankan kandungan asam askorbat sebesar 15% hingga 31% dan 37% hingga 49%. Asam askorbat dalam bidara menjadi berkurang dipengaruhi oleh metode perlakuan awal (Kannan et al., 2021).

1. Asam Folat

Asam-asam organik yaitu folat merupakan keluarga vitamin B zat alami yang ditemukan di bayam dan melarutnya dalam air. Asam folat berungsi membantunya produksi sel darah, memperbaiki luka, pembentukannya dan sangat penting untuk pembentukan DNA dan RNA. Asam folat berperan melindungi dan memperbaikinya konsentrasi, depresi (Jamilah, 2019).

1. Asam Glukonat

Asam glukonat yang tergantung dalam teh kombucha berfungsi mengawetkan makanan-makanan yang di dalam tubuh (Jamilah, 2019).

1. Asam Asetat

Asam asetat atau asam cuka adalah yang paling besar di produksi oleh teh kombucha. Asam asetat inilah nantinya akan member cita rasa asam, berperan utamanya yaitu pengikat racun diubah menjadi larut air yaitu ester kemudian dikeluarkan bersama urin (Jamilah, 2019).

1. Asam Chondroitin Sulfat

Asam condroitin sulfat adalah sebagian dari tulang yang rawan dilapisi permukaan sendi-sendi, perannya sebagai penjaga keutuhannya sendi-sendi (Jamilah, 2019).

1. Asam Laktat

Asam laktat keberadanya didalam tubuh manusia memiliki peran yaitu sebagai mencegah kanker kandungannya asam laktat sangat tinggi pada kombucha, Kombucha pada dasarnya bisa dijadikan dasar untuk mengobati kanker karna bisa meningkatkan kandungan asam laktat dalam tubuh (Jamilah, 2019).

1. Asam Amino Esensial

Asam amino berfungsi untuk membangunnya protein dan bermanfaat untuk mengganti bagian sel yang rusak dalam tubuh. Asam amino digolongkan menjadi valin, therionin, leusin, lisin (Jamilah, 2019).

1. Enzim Enzim

Merupakan bahan organic yang berfungsi melancarkan metabolisme zat di dalam. Misalnya, enzim lipase yang berperan untuk metabolisme lemak atau trypase yang berperan untuk metabolisme protein (Jamilah, 2019).

1. Antibiotik Tertentu

Antibiotik juga terdapat pada kombucha dan berfungsi untuk mempengaruhi pertumbuhan bakteri jahat yang mencemari starter kombucha SCOBY. Adanya senyawa ini SCOBY bisa mengendalikan pertumbuhannya selain antibiotik alkohol memiliki peran sebagai unsur pengawet, sehingga cairan kombucha tidak mudah basi atau rusak (Jamilah, 2019).

1. Kadar Alkohol

Kombucha memiliki kandungan alkohol yang nyatanya dapat lebih rendah dari pada beberapa makanan atau minuman fermentasi seperti tape. Kandungan alkohol pada tape sekitar 10 – 11%, sedangkan kombucha memiliki kadar alkohol normal sekitar 0,2 – 1 % (Puspito et al., 2015).

Manfaat lain dari kombucha selain yang disebutkan di atas antara lain proses detoksifikasi, membantu bakteri sehat di usus, menyeimbangkan homeostasis dalam tubuh, mendukung fungsi hati, meningkatkan metabolisme, meningkatkan fungsi pencernaan dan usus, membangun kembali jaringan ikat, meningkatkan energi dan menurunkan stress, menurunkan tekanan darah, meredakan sakit kepala dan migrain, mengurangi terjadinya dan ukuran batu ginjal, menghancurkan radikal bebas yang diketahui menyebabkan kerusakan sel, membantu regenerasi sel yang sehat, meningkatkan penglihatan, menyembuhkan eksim, mencegah arteriosklerosis, mempercepat penyembuhan maag, membantu membersihkan kandidiasis (yaitu, infeksi jamur), menurunkan kadar glukosa (mencegah lonjakan energi) (Puspito et al., 2015).

### **2.4.3 Fermentasi Teh Kombucha**

Teh kombucha mengalami fermentasi untuk mendapatkan hasil produk dari teh kombucha itu sendiri. Khamir dalam kombucha hidup secara simbiosis dengan bakteri. Khamir di dominasi oleh *S. Ludwigii, Schizosaccharomyces pombe, S. Apiculatuss, S. Cerevisiae* dan lainnnya. Khamir dan bakteri ini bekerja secara aerob. Khamir akan memecah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa khamir ini nantinya akan memproduksi etanol dari glukosa sedangkan bakteri merubah glukosa menjadi asam organik seperti asam asetat, asam laktat asam glukonat, dll. (Jamilah, 2019).

Bakteri pada SCOBY beberapa menghasilkan asam laktat seperti *Lactobasillus, Streptococus, Pediococcus* jenis *Laktobacillus* lebih banyak *L. Plantarum, L. Fermentum*. Pada bakteri asam laktat suhu optimum BAL yaitu 5,5- 6,5 dan minimum 4,5 bakteri akan bekerja akan tetapi beberapa bakteri dapat hidup pada pH asam dari jenis *Lactobacullus* sedangkan beberapa bakteri dalam SCOBY tidak dapat hidup dalam pH asam seperti *Acetobacter,* BAL Tidak kalah penting dalam kemampuannya memfermentasikan glukosa yang dibedakan menjadi dua yaitu homofermentatif dan hetrofermentatif. BAL homofermentatif mempunyai kemampuan mengubahnya seluruh glukosa dijadikan asam laktat (Jamilah 2019).

Pada teh kombucha hasil metabolit tidak hanya asam asam organik, asam amino tetapi juga beberapa vitamin salah satunya Vitamin C. Asam askorbat adalah salah satu vitamin yang tidak stabil dan mudah teroksidasi dapat merusak Vitamin, asam askorbat apabila terkena sinar, suhu panas, enzim alkali, oksidator, katalisnya besi dan tembaga. Asam askorbat akan membentuk asam L-dehidroaskorbat, asam L-askorbat dua-duanya akan aktif sebagai asam askorbat atau Vitamin C. Vitamin C teroksidasinya merubah L- dehidroaskorbat. Asam L-dehidroaskorbat merupakan yang sangtat tidak stabil selanjutnya akan mengalami pengubahan bantuk yaitu asam L-diketogulonat secara kimia senyawa ini keaktifannya sebagai Vitamin C tidak ada (Winarno, 1989).

Dalam fermentasi bakteri *acetobacter xylinum* akan menghasilkan vitamin C, dari D-glukosa akan direduksi menjadi D-serbitol. Pada awal fermentasi D-serbitol akan merubah bentuk menjadi L-serbosa dengan bantuan enzim yang dihasilkan bakteri *acetobacter xylinum*. Gugus alkohol dari senyawa gula ini akan teroksidasi oleh bakteri dengan adanya oksigen. L-serbosa difermentasikan lebih lanjut menjadi asam askorbat atau vitamin C. direaksikan sebagai berikut :

D-glukosa reduksi→ D-sorbitol acetobacter oksidasi →L-sorbosa→ vitamin C

Asam askorbat ini tidak dapat dibuat oleh sendiri dalam tubuh kebutuhan dianjurkan oleh orang dewasa 30 mg/hari. Vitamin C akan diekresikan melalui urin jika berlebihan (Andarwulan dan Koswara, 1992).

### **2.4.4 Mikrobiologi Kombucha**

Kultur yang digunakan dalam fermentasi kombucha memiliki komposisi mikrobiologi yang bervariasi sesuai denga asal, cuaca, lokasi geografis dan media yang digunakan untuk proses fermentasi kombucha (Leal et al. 2018). Bakteri asam asetat dalam kombucha merupakan mikroba yang memiliki sifat obligat aerob yaitu bakteri tersebut hanya akan tumbuh apabila terdapat oksigen (Ardheniati, 2009). Khamir berperan merombak gula menjadi alkohol, sedangkan bakteri asam asetat mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat (Ardheniati et al. 2009). Menurut Leal dkk (2018) terdapat beberapa spesies bakteri dan ragi yang dalam kombucha antara lain (Leal et al. 2018):

**Tabel 2.2** Spesies Bakteri dan Khamir dalam Kombucha

|  |  |
| --- | --- |
| **Bakteri** | **Khamir** |
| *Acetobacter xylinum* | *Saccharomyces cerevisiae* |
| *Acetobacter xylinoides* | *Zygosaccharomyces bailii* |
| *Bacterium gluconicum* | *Schizosaccharomyces pombe* |
| *Acetobacter aceti* | *Saccharomyces ludwigii* |
| *Acetobacter pasteurianus* | *Zygosaccharomyces rouxii* |
| *Gluconobacter oxydans* | *Torulaspora delbrueckii* |
| *Lactobacillus sp.* | *Brettanomyces bruxellensis* |
| *Lactococcus sp.* | *Brettanomyces lambicus* |
| *Leuconostoc sp.* | *Brettanomyces custerii* |
| *Bifidobacterium sp.* | *Candida sp.* |
| *Termus sp.* | *Pichia membranaefaciens* |
| *Allobacullum sp.* | *Kloecera apiculate* |
| *Ruminococcaceae incerate sedis* | *Torolupsis sp.* |
| *Propionilbacterium sp.* |  |
| *Enterokokus sp.* |  |

### **2.4.5 SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*)**

Kombucha kultur yang biasa disebut sebagai SCOBY (*symbiotic culture of bacteria and yeast*) merupakan bahan utama yang harus ada. ragi (*yeast*) dan bakteri (*bacteria*) yang tumbuh membuat sebuah simbiosis yang saling menguntungkan (Puspito et al., 2015).

Bakteri pada kombucha diklasifikasikan menjadi bakteri asetat (*acetic acid bacteria*) dan bakteri lactat (*lactic acid bacteria*) walau keduanya menghasilkan asam. Keduanya memberikan keuntungan pada yang lain, seperti hasil samping dari pengolahan bakteri akan menjadi makanan jamur, dan sebaliknya hasil dari jamur akan menjadi makanan bagi bakteri yang hidup (Puspito et al. 2015).

SCOBY merupakan hasil proses fermentasi dari campuran bakteri dan ragi yang hidup dalam koloni yang sama dan mempunyai bentuk seperti lapisan gel. Mikroba yang terdapat pada SCOBY akan bekerja dengan cara mengubah larutan teh yang mengandung gula menjadi berbagai asam asam organik, vitamin, mikro-nutrisi, dan molekul kompleks. Selama proses fermentasi, SCOBY juga akan menghasilkan asam glukoronat, asam kondroitin sulfat, asam hyaluronik, vitamin B1, B6, B12, dan beberapa enzim baik yang berperan di dalam tubuh manusia (Naland, 2008)

Proses pembentukan nata SCOBY terjadi karena adanya peran khamir dan bakteri, dimana khamir berperan dalam merubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, kemudian bakteri *Acetobacter xylinum* akan merubah glukosa menjadi selulosa yang biasanya disebut dengan nata atau pelikel yang melayang di permukaan medium larutan (Rahmadani et al., 2018). Selulosa akan dihasilkan pertama kali dalam medium dalam bentuk tidak berstruktur, yang nanti membentuk lapisan nata SCOBY (Jamilah, 2019).

SCOBY yang dihasilkan dari proses fermentasi sesuai dengan standar awal SCOBY membentuk SCOBY yang bulat sesuai dengan wadah yang digunakan, dimana wadah akan mempengaruhi bentuk SCOBY yang dihasilkan. Kemudian, warna kecoklatan pada SCOBY disebabkan oleh jenis teh yang digunakan beserta warna dari media SCOBY tumbuh. Warna pada SCOBY akan semakin gelap seiring lamanya waktu fermentasi yang dilakukan karena SCOBY akan semakin banyak menyerap warna dari media yang digunakan (Rahmadani et al., 2018).

### **2.4.6 Faktor Faktor yang Mempengaruhi Kombucha**

Faktor yang mempengaruhi fermentasi, yaitu pH, suhu, dan jumlah oksigen (Soto et al. 2018):

1. pH

Nilai pH yang terlalu tinggi justru dapat mengganggu aktivitas biologis fermentasi mikroba karena asidogen umumnya berfungsi dari pH 4 hingga 8,5 (Maspolim et al., 2015).

1. Suhu

Suhu menjadi faktor yang mempengaruhi ferementasi karena dengan menjaga suhu optimal selama fermentasi menghasilkan pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim yang lebih baik. Oleh karena itu, manfaat fermentasi dapat meningkat. Secara umum, nilai suhu fermentasi kombucha berkisar antara 22°C hingga 30°C. Suhu naik diatas suhu optimun atau suhu dibawah rata-rata akan mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme akan berhenti dan sel-sel akan mati (Soto et al., 2018).

1. Jumlah Oksigen

Jumlah oksigen dapat mempengaruhi fermentasi, karena fermentasi bersifat aerobik dan membutuhkan sejumlah oksigen. Stoikiometri respirasi merupakan jumlah, maka oksidasi glukosa dapat ditulis dengan rumus sebagai berikut (Soto et al. 2018):

C6H12O6 + 6O2 = 6H2O + 6CO2

Jumlah 192 g oksigen diperlukan untuk oksidasi lengkap 180 g glukosa. Namun, kedua komponen tersebut harus berada dalam larutan sebelum tersedia dalam mikroorganisme. Jumlah oksigen larut kira-kira 6000 kali lebih sedikit didalam air dibandingkan glukosa, sehingga menyediakan kultur mikroba tidak dapat disesuaikan dengan jumlah oksigen untuk menyelesaikan oksidasi glukosa atau sumber karbon lainnya sebagai tambahan (Soto et al. 2018).

1. Waktu Fermentasi

Fermentasi teh Kombucha biasanya berkisar antara 7 hingga 10 hari dan aktivitas biologis dapat meningkat selama proses tersebut. Meskipun sebagian besar aktivitas antioksidan yang diperoleh telah meningkat seiring dengan waktu inkubasi. Pemilihan durasi periode fermentasi juga bergantung pada karakteristik berupa rasa dan warna. Fermentasi kombucha yang baik dikonsumsi tidak lebih dari 10 hari. Fermentasi yang berkepanjangan tidak disarankan karena penumpukan asam organik, yang dapat mencapai tingkat kerusakan sehingga kurang baik untuk konsumsi (Soto et al., 2018).

## **2.5 Oksidan dan Radikal Bebas**

Radikal bebas merupakan molekul yang mengandung lebih dari satu elekrton tidak berpasangan yang menyebabkan molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas diperoleh dari oksidan dan nitrogen (Jamila, 2019).

Radikal bebas di dalam tubuh merupakan hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi (asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, dan radiasi matahari). Radikal bebas akan bereaksi dengan molukel sel disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga menjadi lebih stabil. Tetapi molekul sel tubuh yang diambil elektronnya akan berubah menjadi radikal bebas. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan stres oksidatif yang menyebabkan suatu peradangan, kerusakan DNA atau sel dan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, ketarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Parwata, 2016).

Radikal bebas sangat reaktif karena dapat membentuk senyawa baru. Senyawa radikal bebas baru bila bereaksi dengan melekul lain akan membentuk senyawa radikal baru lagi, demikian seterusnya sehingga semua reaksi-reaksi tadi disebut dengan reaksi berantai *(Chain reaction).* Reaksi akan berjalan terus menerus hingga adanya senyawa peredam yang bersifat antioksidan. Salah satu kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas yaitu kerusakan membran sel yang berakibat kematian sel dan jaringan (Jamila, 2019).

Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh (internal) dan dari luar tubuh (eksternal) (Jamila, 2019).

1. Sumber internal

Sumber internal merupakan respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak.

1. Sumber eksternal

Sumber eksternal berasal dari faktor luar tubuh seperti pencemaran lingkungan, asap kendaraan, bahan makanan tambahan, cara pengolahan makanan, rokok polutan, radiasi ozon, sinar X, kemoterapi dan pestisida.

## **2.6 Antioksidan**

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menamgkal radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronya kepada senyawa radikal bebas, sehingga aktivitas radikal bebas dapat dihambat. Antioksidan berfungsi untuk mencegah terjadinya stress oksidatif. Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan juga berfungsi untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif seperti kanker, tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Nazilah, 2019).

Secara kimia antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal radikal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat oksidasi. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuk radikal, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Nafisah, 2019).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi tiga yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Nazilah, 2019).

1. Antioksidan primer berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru dengan merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang stabil.
2. Antioksidan sekunder berfungsi sebagai senyawa penangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih beasar.
3. Antioksidan tersier merupakan senyawa yang dapat memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena adanya serangan radikal bebas.

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dikelompokkan menjadi tiga yaitu :

1. Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan (enzim Superoksida Dismutase (SOD), Gluatation Peroksidase (GPx), dan katakase (CAT).
2. Antioksidan sintesis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propil Galat (PG) dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).
3. Antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavanoid).

Berdasarkan kelarutannya, antioksidan dibagi menjadi dua yaitu larut dalam air (hidrofilik) dan larut dalam lipid/lemak (hidrofobik). Antioksidan larut dalam air dapat bereaksi dengan radikal bebas yang di dalam sitoplasma dan plasma darah. Sedangkan antioksidan larut lemak menjaga membran sel dari peroksidase lipid yang disintesis dalam tubuh (Nazilah, 2019).

Kemampuan antioksidan diukur dengan nilai hambatan radikal bebas dengan adanya senyawa aktif yang dikandungnya. Nilai IC50 (Inhibition Consentration) adalah nilai yang menunjukkan kemampuan antioksidan untuk menghambat aktivitas radikal bebas sebanyak 50%.

**Tabel 2.3** Kategori Kekuatan aktivitas antioksidan

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Kategori** | **Konsentrasi (mcg/ml)** |
| 1 | Sangat Kuat | <50 |
| **2** | Kuat | 50-100 |
| **3** | Sedang | 101-150 |
| **4** | Lemah | 151-200 |

(Siagian, 2014).

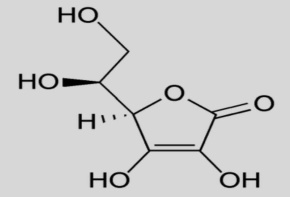
Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah nilai Inhibition Concentration (IC50) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambat 50%. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan akan mempunyai nilai IC rendah (Siagian, 2014).

### **2.6.1 Vitamin C**

Vitamin C merupakan antioksidan yang tangguh. Ia membantu menjaga kesehatan sel, meningkatkan penyerapan asupan zat besi dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh. Di samping berfungsi sebagai antioksidan, vitamin C memiliki fungsi menjaga dan memelihara kesehatan pembuluh-pembuluh kapiler, kesehatan gigi dan gusi. Vitamin C membantu penyerapan zat besi, menghambat produksi nitrosamin, dan zat pemicu kanker juga membantu penyembuhan luka (Siagian, 2014).

Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Kekurangan vitamin C telah dikenal sebagai penyakit sariawan dengan gejala seperti gusi berdarah, sakit lidah, nyeri otot dan sendi, berat badan berkurang, lesu dan lain-lain. Vitamin C mempunyai peranan yang penting bagi tubuh manusia seperti dalam sintesis kolagen, pembentukan carnitine, terlibat dalam metabolisme kolestrol menjadi asam empedu dan juga berperan dalam pembentukan neurontrasmiliter norepinefrin. Vitamin C memiliki sifat sebagai antioksidan yang dapat melindungi molekul-molekul yang sangat diperlukan oleh tubuh, seperti protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat dari kerusakan radikal bebas dan reaktif oksigen spesies. Vitamin C juga dibutuhkan untuk memelihara kehamilan, mengatur kontrol kapiler darah, secara memadai mencegah hemoroid, mengurangi resiko diabetes dan lain-lain.

Kehilangan vitamin C sering terjadi ketika pengolahan, pengeringan, dan cahaya. Vitamin C merupakan reduktor yang kuat. Bentuk teroksidasinya adalah asam dehidroaskorbat. Dengan demikian Vitamin C berperan menghambat reaksi-reaksi oksidasi yang berlebihan dalam tubuh (Silitonga, 2014).



**Gambar 2.3 Struktur Kimia Vitamin C**

## **2.7 Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia merupakan langkah awal dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk mengetahui gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang digunakan sebagai sampel, dengan cara memisahkan antara senyawa yang terkandung dan senyawa yang tidak terkandung dalam sampe. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi warna yang dihasilkan menggunakan suatu penambahan reaksi terentu (Kristianti dkk., 2008).

Metode yang digunakan pada skrinning fitokimia harus memenuhi beberapa kriteria yaitu, lebih sederhana, cepat, hanya membutuhkan peralatan yang sederhana, khas untuk satu golongan senyawa,dapat mendeteksi keberadaan senyawa meskipun dalam konsentrasi yang cukup kecil, salah satu hal yang berperan penting dalam prosedur skrinning fitokimia ialah pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Skrinning fitokimia untuk menguji senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, steroid, tannin, dan saponin (Gultom dkk,2019).

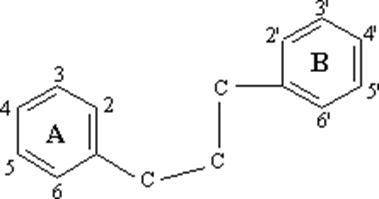
## **2.8 Senyawa metabolit sekunder**

### **2.8.1 Alkaloid**

Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Golongan senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil. Kebanyakan alkaloid memiliki rasa pahit, bersifat basa lemah, dan sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam pelarut organic non polar seperti dietil eter, kloroform dan lain-lain (Julianto,2019).

### **2.8.2 Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi alkoksilasi pada strukturnya. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tmbuhan telah diidetifikasi, diantaranya senyawa antosianin, favonol, dan flavon. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di uar vakuola, Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C6-C3-C6. (Julianto,2019).



**Gambar 2.4** Flavonoid

### **2.8.3 Tanin**

Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organic lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid. Senyawa-senyawa Tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan. Senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsaan oleh herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dalam metabolisme tumbuhan, Tanin dalam bentuk ini adalah tannin yang terhidrolisis oleh asam atau enzim menghasilkan asam galat dan asam elagat. Secara kimia, tannin terhidrolisis dapat merupakan ester atau asam fenolat. Asam galat dapat ditemukan dalam cengkeh sedangkan asam elagat ditemukan dalam daun Eucalyptus (Julianto,2019).



**Gambar 2.5** Tanin

### **2.8.4 Saponin**

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida triterpenoida ataupun glikosida stereoida yang merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dengan air. Saponin bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa dan menghemolisa sel darah merah (Harborne, 1987).

Pembentukan busa yang mantap waktu mengekstraksi tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin. Sifat yang dimiliki saponin antara lain memiliki rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan air. Identifikasi adanya saponin menggunakan dengan terbentuknya busa dan dapat bertahan tidak kurang dari 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCI 2N (Harborne, 1987).

### **2.8.5 Steroid dan Terpenoid**

Steroid adalah triterpena yang kerangka dasarnya berupa cincin siklopentana perhidrofenantrenan. Nama sterol dipakai khusus untuk steroid alkohol tetapi untuk lebih praktis, karena semua steroid tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksil pada aton C-3 seringkali semuanya steroid tumbuhan disebut sterol Sterol terdapat dalam bentuk bebas dan terikat sebagai glikosida sederhana, memiliki aktivitas biologis antara lain peningkatan atau pengendalian reproduksi pada manusia, contohnya progesteron dan testosteron. Senyawa steroid digunakandalam bidang pengobatan sebagai kardiotik precursor, vitamin D, kontrasepsi oral dan anti inflamasi (Tyler, 1976).

Senyawa terpena merupakan kelompok senyawa organik hidrokarbon yang melimpah yang dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Terpenoid juga dihasilkan oleh serangga. Senyawaan ini pada umumnya memberikan bau yang kuat dan dapat melindungi tumbuhan dari herbivora dan predator.Terpenoid juga merupakan komponen utama dalam minyak atsiri dari beberapa jenis tumbuhan dan bunga. Minyak atsiri digunakan secara luas untuk wangi-wangian parfum, dan digunakan dalam pengobatan seperti aromaterapi (Harborne, 1987).

### **2.8.6 Glikosida**

Glikosida adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Glikosida memainkan peranan penting dalam sistem hidup suatu organisme. Beberapa tumbuhan menyimpan senyawa-senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa-senyawa kimia ini akan dapat kembali aktif dengan bantuan enzim hydrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap untuk digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan digunakan dalam pengobatan (Julianto,2019).

## **2.9** **Spektrofotometri UV-Vis**

### **2.9.1 Pengertian**

Spektroskopi UV-tampak dapat dilakukan untuk analisis kualitatif dan untuk identifikasi kelas tertentu dari senyawa dalam campuran murni dan biologis. Lebih disukai, spektroskopi UV-tampak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif karena molekul-molekul aromatik adalah kromofor kuat dalam rentang UV. Senyawa alami dapat ditentukan dengan menggunakan spektroskopi UV-tampak. Senyawa fenolik termasuk anthocyanin, tanin, pewarna polimer, dan fenol membentuk kompleks dengan besi yang telah terdeteksi oleh spektroskopi ultraviolet-tampak (UV-Vis). Selain itu, teknik spektroskopi UV-Vis diketahui menjadi kurang selektif dalam memberikan informasi tentang komposisi kandungan polifenol total. Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk menentukan total fenolik ekstrak (280 nm), flavones (320 nm), asam fenolik (360 nm), dan total anthosianid (520 nm). Teknik ini tidak memakan waktu, dan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan teknik lain (Julianto,2019).

Spektrofotometrimerupakan suatu metode analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombamg spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube. Secara sederhana, spektrofotometri adalah pengukuran penyerapan energi cahaya suatu sistem kimia sebagai fungsi dari panjang gelombang dan radiasi. Dalam percobaan, metode ini biasanya digunakan untuk menentukan kadar Fe3+ dalam sampel. Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV/Vis yang merupakan sebuah instrumen untuk mengukur transmitansi atau absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang (UV: 185–400 nm; Vis: 400–760 nm). Spektrofotometri dapat dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual dengan studi yang lebih mendalam dari absorbsi energi. Absorbsi radiasi oleh suatu sampel diukur pada berbagai panjang gelombang dan dialirkan oleh suatu perekam untuk menghasilkan spektrum tertentu yang khas untuk komponen yang berbeda (Yudono,2017).

### **2.9.2 Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis**

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam.Single-beam instrument Gambar (1), dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata.

Beberapa instrumen menghasilkan single-beam instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm .Doublebeam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. Double-beam instrument (Gambar 2) mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Suhartati,2017).



**Gambar 2.6** Diagram alat spektrometer UV-Vis (*single beam*)

Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digunakaan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi. Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor dioda foto, berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Diagram spektrofotometer UV-Vis (Double-beam) dapat dilihat pada Gambar 2 (Suhartati,2017).



**Gambar 2.7** Skema spektrofotometer UV-Vis (*Double-beam*)

### **2.9.3 Syarat pengukuran**

Spektrofotometri UV-Visible 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: 1. Harus melarutkan sampel dengan sempurna. 2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel) 3. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis 4. Kemurniannya harus tinggi (Suhartati,2017).

Sinar tampak fungsinya ya seperti namanya, agar membuat tampak benda-benda di sekeliling kita. jadi kita bisa membedakan setiap benda dari warnanya. Salah satu aplikasi dari sinar tampak adalah penggunaan sinar laser dalam serat optik pada bidang telekomunikasi.Cahaya yang diserap oleh suatu zat berbeda dengan cahaya yang ditangkap oleh mata manusia. Cahaya yang tampak atau cahaya yang dilihat dalam kehidupan sehari-hari disebut warna komplementer. Misalnya suatu zat akan berwarna orange bila menyerap warna biru dari spektrum sinar tampak dan suatu zat akan berwarna hitam bila menyerap semua warna yang terdapat pada spektrum sinar tampak (Yudono,2017).

**Tabel 2.4** Komplementer

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Panjang gelombang**  **(nm)** | **Warna yang**  **Diabsorpsi** | **Warna yang dipantulkan**  **(komplementer)** |
| 340 – 450 | Lembayung | Kuning – hijau |
| 450 – 495 | Biru | Kuning |
| 495 – 570 | Hijau | Violet |
| 570 – 590 | Kuning | Biru |
| 590 – 620 | Jingga | Hijau-biru |
| 620 – 750 | Merah | Biru-hijau |

Spektrofotometeradalah absorbansi, transmitan, kuvet, drive cell, dan blangko. Absorbansiadalah daya radiasi sinar yang diserap oleh larutan baik itu larutan baku maupun blangko, sedangkan transmitan adalah daya radiasi sinar yang diteruskan atau yang keluar dari kuvet dan daya radiasi sinar yang masuk ke dalam kuvet. Kuvet adalah tempat untuk meletakkan larutan, baik larutan blangko maupun larutan baku, sedangkan Drive celladalah tempat untuk meletakkan kuvet. Keberadaan blangkoberfungsi untuk mengoreksi adanya sinar yang dipantulkan oleh kuvet dan sinar yang diserap oleh substituen lain (Yudono,2017).

Prinsip kerja Spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap dan sebagian dipantulkan dan sebagiannya lagi dipancarkan . Aplikasi rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan alat untuk analisa suatu unsur yang berkadar rendah baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif, pada penentuan secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan spektrum dari suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan adanya senyawa pengompleks sesuai unsur yang dianalisisnya (Yalinastuti,2016).

### **2.9.4 Hukum Lambert-Beer**

Hukum Lambert-Beer (Beer’s law) , berbunyi “Jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan lainnya) yang diserap oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan’’.

Absorptivitas (a) adalah konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel tetapi absorptivitas tergantung pada suhu, struktur molekul, panjang geombang radiasi dan pelarut (Gandjar,2007).

Hukum Lambert-Beer dikenal dengan persamaan sebagai berikut:

A = (Io / It) = a.b.c

Keterangan: Io : Intensitas sinar datang

It : Intensitas sinar yang diteruskan

a : Absorptivitas

b : Panjang sel/kuvet

c : Konsentrasi (g/L)

A : Absorban

**2.10** **Metode Uji Aktivitas Antioksidan**

### **2.10.1 Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)**

Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-difenil-2-pikrihidrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Metode DPPH digunakan karena hanya membutuhkan jumlah sampel yang sedikit, cepat, dan mudah. Konsentrasi DPPH yang digunakan 50-100 µL. DPPH merupakan suatu radikal stabil, berwarna ungu dan disimpan pada tempat gelap terlindung dari cahaya agar tidak terjadi oksidasi molekul karena adanya cahaya, mudah larut dalam metanol, etanol dan mempunyai berat molekul 394,32 g/mol (Molyneux, 2004).

Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari radikal bebas DPPH yang berwarna ungu oleh penghambat radikal bebas. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya, yang sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan *reagen* DPPH. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai *inhibitory concentration* (IC50) (Molyneux, 2004).

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada *λmax* 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Sayuti dan Yenrina, 2015).

A diagram of a chemical reaction

Description automatically generated

**Gambar 2.8 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan**

Peredaman warna DPPH terjadi disebabkan oleh adanya senyawa yang bisa memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2- pikrilhidrazin). Reaksi reduksi DPPH tersebut dapat dilihat pada reaksi berikut (Sayuti dan Yenrina, 2015):

A diagram of a molecule

Description automatically generated

**Gambar 2.9 Reduksi DPPH dari Senyawa Peredam Radikal Bebas**

Reduksi DPPH menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil. Senyawa-senyawa hidroksil didalam ekstrak etanol akan terpisah menggunakan kromatografi kolom menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil. Oleh karena itu terjadi pengurangan jumlah hidrogen yang dapat didonorkan dari fraksi J pada DPPH. Pada kuersetin peredaman warna terjadi lebih efektif jika dibanding ekstrak etanol. Hal ini karena di dalam molekul kuersetin mempunyai lima gugus hidroksil. Jumlah ini cukup banyak pada setiap molekulnya untuk mereduksi DPPH. Oleh karena itu dapat diprediksikan bahwa didalam ekstrak etanol maupun fraksi J senyawa yang berperan dalam aktivitas antioksidan adalah golongan flavonoid dengan jumlah gugus hidroksil cukup sedikit. Semakin banyak gugus hidroksil bebas yang dapat menyumbangkan hidrogen maka semakin banyak juga reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Melalui proses donasi atom hidrogen, zat antioksidan berinteraksi dengan radikal DPPH hingga berubah warna dari ungu menjadi kuning dan dapat diukur pada panjang gelombang 517 nm. DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan akan membentuk difenil pikrilhidrazin. Absorbansi yang terbentuk pada reaksi DPPH dan senyawa antioksidan, dilakukan pembacaan dengan *Microplate Reader* atau spektrofotometer pada panjang gelombang tampak (Hanani et al., 2005).

A diagram of chemical formulas

Description automatically generated

**Gambar 2.10** Reaksi Radikal Bebas DPPH dengan Vitamin C

Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa molekul asam askorbat (vitamin C) dapat mendonorkan dua proton kepada dua molekul radikal DPPH. Ketika asam askorbat mendonorkan proton pertamanya, asam askorbat akan teroksidasi menjadi radikal asam askorbat dan pada tahap donor proton kedua, radikal asam askorbat akan teroksidasi menjadi senyawa netral, asam dehidroaskorbat (Zahira, 2023).

### **2.10.2 Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**

Prinsip dari uji FRAP adalah reaksi yang berdasarkan pada reduksi analog ferroin, kompleks Fe3+ dari tripiridiltriazin Fe(TPTZ)3+ menjadi Fe2+ yang berwarna biru intensif oleh antioksidan pada suasana asam. Pada pengujian FRAP idealnya sampel yang digunakan >3000 μL dan dilarutkan pada air ataupun etanol, dan dilakukan uji pengulangan dengan pengenceran bertahap untuk pengukuran nilai FRAP. Metode uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH ditemukan paling efektif dan efisien diantara tiga metode uji yang gunakan, sedangkan metode FIC paling tidak efektif dan efisien karena sensitivitasnya yang sangat rendah dan daya kelatnya lebih kecil dari 20% (Maryam et al., 2016).

### **2.10.3 Metode FIC (*Ferrous Ion Chelating*)**

Prinsip dari metode FIC adalah membandingkan kemampuan sampel uji untuk bersaing dengan ferrozine dalam membentuk kompleks dengan ion besi (fe2+/ion fero) (Elmastas et al., 2006).

### **2.10.4 ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)**

Metode ORAC adalah cara untuk menilai seberapa efektif antioksidan penangkal radikal bebas dalam makanan, vitamin, suplemen makanan, dan senyawa lainnya. Tes ini dilakukan dengan menggunakan trolox (analog vitamin E) sebagai standar dan dihitung dari TE dan dinyatakan dalam satuan atau nilai ORAC. Semakin tinggi nilai ORAC, semakin besar efek antioksidannya (Maryam et al., 2016).

Nilai ORAC dilaporkan untuk biji-bijian gandum dan fraksinya bersama dengan makanan berbasis gandum. ORAC memiliki keterbatasan diantaranya adalah pertama, uji rumit dan membutuhkan operator lebih terampil. Kedua, mengingat memakan waktu sifat tes kinetik, pembacaan mikroplate yang mahal karena diperlukan untuk sejumlah sampel yang besar. Ketiga, ORAC melibatkan reaksi kompleks (Sayuti dan Yenrina, 2015).

### **2.10.5 CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxcidant Capacity*)**

CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxcidant Capacity*) merupakan metode untuk menentukan adanya aktivitas dan mengukur kapasitas antioksidan dari daun yodium terhdap radikal bebas yang absorbansinya diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 450 nm (Maryam et al., 2016).

### **2.10.6 *Reducing Power***

Metode ini didasarkan pada peningkatan penyerapan campuran reaksi. Peningkatan penyerapan menunjukkan peningkatan pada aktivitas antioksidan. Pada metode ini keberadaan kalium ferisianida, asam trikloroasetat, dan besi (III) klorida akan menyebabkan bahan kimia antioksidan membentuk kompleks berwarna yang dapat dideteksi pada panjang gelombang 700 nm. Peningkatan absorbansi campuran reaksi menunjukkan daya reduksi sampel (Maryam et al., 2016).

### **2.10.7 Uji Kadar Selenium**

Selenium adalah mineral yang penting untuk sintesis protein dan aktivitas enzim glutation peroksidase. Defisiensi Se (Selenium) pada manusia bisa menyebabkan nekrosis hati dan penyakit degeneratif. Manusia yang kekurangan selenium akan lebih berisiko menderita kanker dibandingkan mereka yang berkecukupan selenium (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Glutation peroksidase (GSH-Px) adalah enzim antioksidan yang mengandung selenium (Se) pada sisi aktifnya. Kerja enzim ini mengubah molekul hidrogen peroksida (yang dihasilkan SOD dalam sitosol dan mitokondria) dan berbagai hidroserta lipid peroksida menjadi air .(Sayuti dan Yenrina, 2015).

Selenium terdapat dalam bentuk organik yang merupakan bentuk nutrisi utama bagi manusia dan hewan. Selenium penting untuk sintesis dan aktivitas glutathione peroksidase yang mengkatalisa reduksi hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik. Aktivitas enzim ini tergantung pada adanya 4 atom selenium pada sisi aktif enzim (Sayuti dan Yenrina, 2015)