

BAB I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan spesies yang sangat reaktif yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel tubuh manusia dan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, Alzheimer, kelainan syaraf dan lain-lain. Penyakit-penyakit ini juga dapat disebabkan oleh perubahan penggunaan oksigen dalam tubuh dan meningkatnya pembentukan spesies oksigen reaktif. Di dalam tubuh manusia terdapat antioksidan baik yang bersifat enzimatis maupun non enzimatis yang berfungsi untuk melindungi tubuh dari pengaruh radikal bebas maupun oksidasi zat-zat yang berbahaya. Namun terkadang antioksidan tersebut tidak mampu mencukupi kebutuhan tubuh manusia sehingga harus ditambahkan dengan antioksidan dari luar tubuh. (Alam, Bristi dan Rafiqzaman, 2013 ; Houston, 2010).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi 2 bagian yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik merupakan antioksidan yang dibuat di laboratorium melalui proses kimia. Penggunaan antioksidan sintetik tidak dianjurkan karena pada umumnya memiliki efek yang tidak baik untuk kesehatan tubuh. Oleh karena itu pada umumnya masyarakat menggunakan antioksidan alami yang berasal dari buah, sayur, tanaman obat maupun tumbuhan lainnya untuk mencegah ataupun mengobati penyakit.

Meningkatnya minat masyarakat untuk menggunakan antioksidan alami menyebabkan banyak peneliti mempelajari aktivitas antioksidan yang terdapat pada bahan-bahan alam. Penelitian yang telah dilakukan antara lain penentuan aktivitas antioksidan pada buah (Robert & Gordon, 2003; Stratil & Kuban, 2007), sayur (Andarwulan et al, 2010; Calado et al, 2015; Ismail et al, 2004; Juanis et al, 2016) dan lain-lain.

Metode penentuan aktivitas antioksidan dalam sampel yang paling sederhana adalah secara spektrofotometri. Penentuan aktivitas antioksidan secara spektrofotometri dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), *2,2-Azinobis(3-etilbenzotiazolin-6- sulfonic acid* (ABTS), *Oxygen*

Radical Absorbance Capacity(ORAC) dan lainnya. Diantara metode-metode ini, metode DPPH, FRAP dan CUPRAC paling banyak digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan alami maupun sintetik (Deng et al, 2012 ; Bolanos de la Torre et al, 2015).

Metode FRAP merupakan metode penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan reaksi reduksi besi (III) oleh antioksidan. Metode penentuan antioksidan yang berdasarkan reduksi besi lainnya adalah metode PM (*Phenanthroline Method*), *batho phenanthroline method* dan *ferricyanide method*. Perbedaan metode-metode ini dengan metode FRAP terletak pada reagen pengompleks yang digunakan, dimana pada PM digunakan 1.10 fenantrolin, *batho phenanthroline method* digunakan batho fenantrolin dan pada *ferricyanide method* digunakan FeCl_3 yang akan membentuk kompleks dengan $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Berker et al, 2007). Aleksandra et al (2008) telah melakukan penelitian tentang penentuan aktivitas antioksidan dalam sampel minyak sayur dengan menggunakan metode PM dan membandingkannya dengan metode FRAP. Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa metode PM merupakan metode yang teliti, sederhana dan mempunyai korelasi yang bagus dengan metode FRAP. Yefrida, et al (2014 dan 2015) juga telah melakukan penelitian validasi metode PM untuk penentuan aktivitas antioksidan dalam sampel jeruk, mangga dan rambutan. Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa metode PM valid untuk penentuan ke-tiga sampel tersebut.

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode PM mekanismenya hampir sama dengan metode FRAP. Perbedaannya terletak pada penggunaan zat pengompleks untuk Fe^{2+} . Pada metode FRAP, zat pengompleks yang digunakan adalah *2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine*(TPTZ) sedangkan pada metode PM digunakan 1.10 fenantrolin. Keuntungan pemakaian metode PM adalah tidak memerlukan pengaturan suhu dan pH larutan, sehingga prosedur pengerjaannya lebih sederhana. Disamping itu harga zat pengompleksnya juga relatif lebih murah (harga 1.10 fenantrolin sekitar 1/10 harga TPTZ).

Pada penelitian ini dilakukan modifikasi metode fenantrolin dengan cara mengganti pelarut reagen yang digunakan yaitu metanol dengan air. Penggantian pelarut ini dilakukan karena reagen-reagen yang digunakan dalam analisis ini dan senyawa antioksidan yang akan diuji pada umumnya berupa senyawa-senyawa yang larut di

dalam air. Penggunaan air sebagai pelarut akan memberikan keuntungan yaitu mengurangi kandungan metanol yang bersifat toksik dalam limbah yang dihasilkan, mengurangi volume limbah dan mengurangi biaya analisis karena harga metanol jauh lebih mahal daripada air.

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan tertentu dimulai dari penentuan kondisi optimum pengukuran, validasi metode analisis, penentuan aktivitas antioksidan dengan MPM (*Modified Phenanthroline Method*), perbandingan metode serta korelasi metode dengan metode penentuan aktivitas antioksidan yang sudah umum digunakan yaitu metode fenantrolin, FRAP dan DPPH. Disamping itu juga dilakukan penentuan *Total Phenolic Content* (TPC) dengan metode Folin-Ciocalteu untuk melihat korelasi antara metode penentuan aktivitas antioksidan dengan TPC.

2. Perumusan Masalah

- 1) Bagaimanakah kondisi optimum pengukuran dengan menggunakan metode MPM ditinjau dari parameter panjang gelombang, pH, waktu kestabilan kompleks, konsentrasi orto fenantrolin dan konsentrasi FeCl_3 ?
- 2) Apakah metode MPM yang diusulkan valid untuk penentuan aktivitas antioksidan dalam sampel buah, sayur dan tanaman obat, ditinjau dari parameter linieritas, LoD dan LoQ, Standar Deviasi Relatif dan Perolehan Kembali.
- 3) Apakah aktivitas antioksidan yang ditentukan dengan metode MPM hasilnya tidak berbeda atau berbeda nyata dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan dengan metode PM, FRAP dan DPPH?
- 4) Bagaimanakah nilai korelasi antara metode MPM dengan metode PM, FRAP, DPPH dan TPC?
- 5) Apakah terdapat keunggulan metode MPM dibandingkan dengan PM?

3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

- 1) Mendapatkan kondisi optimum untuk penentuan aktivitas antioksidan dalam sampel buah, sayur dan tanaman obat dengan menggunakan metode MPM.
- 2) Memvalidasi metode MPM berdasarkan parameter linieritas, LoD dan LoQ, Standar Deviasi Relatif dan Perolehan Kembali.
- 3) Membandingkan aktivitas antioksidan dalam sampel buah, sayur dan tanaman obat yang didapatkan dengan metode MPM dengan metode penentuan aktivitas antioksidan yang sudah umum digunakan yaitu metode PM, FRAP dan DPPH.
- 4) Menentukan nilai korelasi antara metode PM dengan Metode Fenantrolin, FRAP, DPPH dan TPC
- 5) Menentukan keunggulan metode MPM dibandingkan dengan PM

4. Manfaat Penelitian

Metode analisis untuk penentuan aktivitas antioksidan dalam sampel sudah cukup banyak tersedia baik untuk penentuan aktivitas antioksidan alami maupun untuk penentuan aktivitas antioksidan sintetik. Pemilihan metode analisis yang digunakan biasanya berdasarkan kesensitifan, ketelitian, kesederhanaan prosedur, ketersediaan peralatan dan bahan kimia yang dibutuhkan. Metode analisis yang diusulkan ini diharapkan dapat menambah referensi metode analisis dengan kriteria yang telah disebutkan, yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel buah, sayur dan tanaman obat, sehingga peneliti lebih leluasa untuk memilih metode yang sesuai dengan peralatan, zat dan dana yang tersedia.