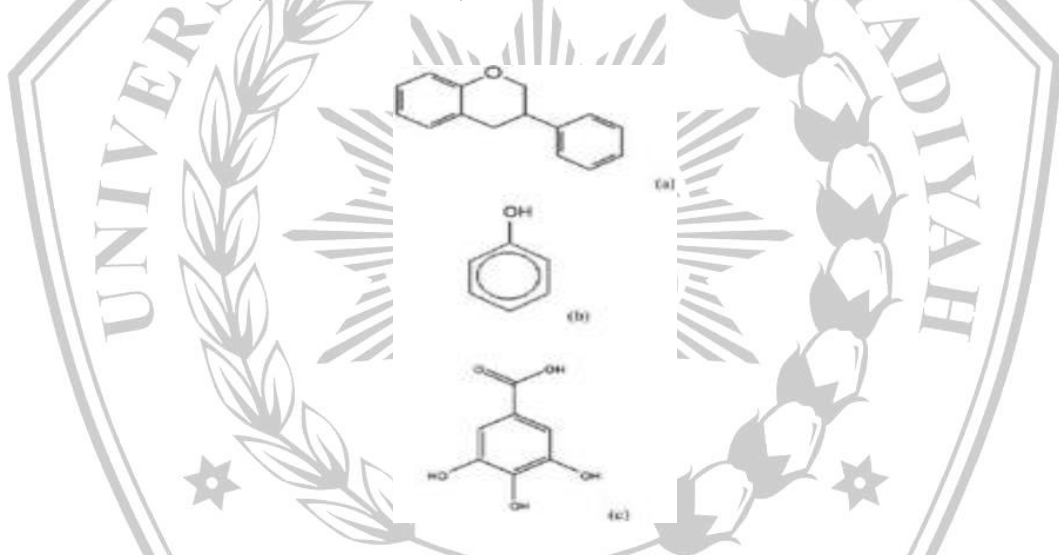


BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Fenol sebagai Zat Antioksidan

Fenol merupakan metabolit sekunder bioaktif yang tersebar pada tumbuhan dengan disintesis oleh asam sikimat, fosfat pentosa dan jalur fenilpropanoid. Fenol memiliki struktur yang tersusun atas satu atau dua gugus hidroksil dari berbagai molekul sederhana hingga polimer kompleks. Berdasarkan Gambar 2.1 ikatan gugus benzen, fenol dibagi menjadi sub kelompok yaitu flavonoid, tanin, asam fenolat dan stilben (Lee et al., 2020).



Gambar 2. 1 Struktur Senyawa Fenol a) Flavonoid b) fenol dan c) Asam Fenol

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang paling mudah ditemukan di alam karena hampir terdapat pada seluruh tumbuhan. Flavonoid secara terbentuk dari 15 atom karbon yang tersusun dalam 3 cincin. Flavonoid dikelompokkan berdasarkan perbedaan struktur ikatan oksidasi pada gugus karbon sentral. Flavonoid terbagi menjadi 6 kelompok yaitu flavon, flavanon, flavonol, flavanol, antosianin, dan isoflavon (Alara et al., 2021). Flavonoid berkontribusi dalam pembentukan pigmen kuning, merah, jingga, biru, dan ungu pada buah, bunga atau daun. Senyawa ini

berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan anti jamur (Ningsih et al., 2023). Senyawa flavonoid dapat mengobati berbagai penyakit dari radikat bebas dengan kemampuan metilasi flavonoid. Metilasi flavonoid meningkatkan stabilitas metabolik pada transpor membran dengan cara mengikat gugus metil pada kelompok hidroksil bebas atau atom karbon (Ibrahim et al., 2018).

Tanin terdiri dari tanin terhidrolisis (*hidrolizable tannin*) dan tanin terkondensasi (*condensed tannins*). Tanin terhidrolisis merupakan senyawa ester dari gula sederhana dengan satu atau lebih asam karboksilat polifenol dan mudah mengalami hidrolisis. Tanin terhidrolisis akan membentuk asam egalat saat dilarutkan dalam air. Tanin terkondensasi menghasilkan asam klorida yang tidak dapat di hidrolisis karena tersusun atas polimer flavonoid. Tanin terkondensasi membentuk senyawa tak berwarna yang dapat ditemukan pada semua tumbuhan. Tanin memiliki khasiat seperti antidiare, astrigen, antibakteri, dan antioksidan (Zahra et al., 2021).

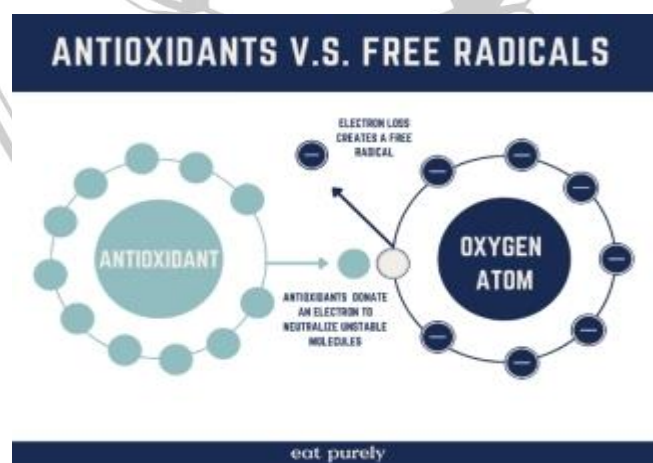
Asam fenolat merupakan senyawa yang berperan penting dalam menghambat proses kerusakan secara oksidatif. Senyawa ini terbagi menjadi 2 berdasarkan turunannya yaitu asam benzoat (asam galat) dan asam simamat (asam kumarat dan asam ferulat). Asam fenolat merupakan senyawa antioksidan yang sangat kuat dan memiliki aktivitas antibakteri, antivirus, antikarsinogenik, antiinflamasi, dan aktivitas vasodilatory. Asam fenolat dapat ditemukan pada sayuran, buah-buahan, dan sereal (Alara et al., 2021).

2.2 Aktivitas Antioksidan di Dalam Tubuh

Antioksidan memutuskan reaksi pada rantai radikal bebas, molekul reaktif dengan elektron tidak berpasangan. Mekanisme pertahanan tubuh melibatkan

enzim seperti superoksida dismutase (SOD) yang mengubah radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida, yang kemudian dikatalisis oleh enzim katalase dan glutathion peroksidase (GPx) untuk menghasilkan air dan oksigen. Enzim GPx juga melindungi jaringan dari serangan oksidatif dengan menggunakan glutathion tereduksi (GSH), yang kemudian harus direduksi kembali oleh enzim glutathion reduktase untuk mempertahankan fungsi antioksidan. (GRed) (Werdhasari, 2014).

H_2O_2 yang tidak dikonversi menjadi H_2O , dapat membentuk radikal hidroksil reaktif ($OH\cdot$) apabila bereaksi dengan ion logam transisi (Fe^{2+}/Cu^+). $OH\cdot$ bersifat lebih reaktif dan berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi lipid, protein dan DNA. Di pihak lain, tubuh tidak mempunyai enzim yang dapat mengubah $OH\cdot$ menjadi molekul yang aman bagi sel. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas terutama terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi, tubuh membutuhkan antioksidan dari luar. Berbagai tanaman maupun obat sintesis dapat berperan sebagai antioksidan, antara lain bawang-bawangan, spirulina dan Nasetil sistein (NAC) (Manongko et al., 2020).



Gambar 2. 2 Cara Kerja Antioksidan

Secara alami, tubuh mampu menghasilkan atau mensintesis antioksidan yang terdiri atas enzim-enzim. Peningkatan radikal bebas yang berlebihan, diperlukan antioksidan tambahan untuk menetralkan efek radikal bebas. Salah satu upaya untuk meningkatkan antioksidan dalam tubuh adalah dengan mengonsumsi bahan pangan yang mengandung antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, betakaroten hingga senyawa fenolik (Hasim et al., 2019).

2.3 Tinjauan Tentang Tanaman Alpukat

2.3.1 Morfologi Tanaman Alpukat

Alpukat (*Persea Americana* Mill.) merupakan tanaman yang berasal dari Meksiko dan Amerika Selatan. Alpukat banyak dibudidayakan di Amerika Tengah sebagai tanaman perkebunan monokultur dan sebagai tanaman pekarangan di beberapa daerah-daerah tropika lainnya di dunia seperti di Indonesia (Achmad & Sugiarto, 2020). Tanaman alpukat dapat tumbuh baik pada daerah dataran tinggi maupun rendah dengan ketinggian antara 5 hingga 1500-meter dari permukaan laut. Alpukat dapat tumbuh optimal pada ketinggian 200-1000 mdpl dengan curah hujan minimum 750-1000 mm/tahun. Suhu optimal yang diperlukan untuk pertumbuhan alpukat di kisaran 12,8 - 28°C (Widianti et al., 2022).

Tanaman alpukat memiliki pohon berbentuk kanopi rimbun dengan tinggi mencapai 20 m, berdaun tunggal berbentuk lonjong hingga lonjong dengan panjang daun antara 12-25 cm. Alpukat termasuk bunga bersifat hermaphrodit yang tersusun pada malai yang keluar dekat ujung ranting dengan warna kuning kehijauan. Buah alpukat berbentuk lonjong, bola atau bulat telur dengan panjang 5-20 cm, berwarna hijau atau hijau kekuningan. Daging buah akan berwarna kekuningan dengan

tekstur lunak berlemak. Biji alpukat berkeping dua dengan berbentuk lonjong atau bulat (Rosanti, 2013).



Gambar 2. 3 Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.)

2.3.2 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Regnum : Plantae

Division : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Ranunculales

Familia : Lauraceae

Genus : *Persea*

Spesies : *Persea americana* (Rosanti, 2013).

2.3.3 Kandungan dan Khasiat

Kandungan alpukat terdiri dari beberapa senyawa aktif seperti polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, saponin, tanin, monoterpenoid, dan steroid. Lebih lanjut dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2. 1 Senyawa antioksidan pada alpukat (mg/1000g)

Senyawa	Daun	Buah	Biji
Saponin	1.29±0.08	0.14±0.01	19.21±2.81
Tanin	0.68±0.06	0.12±0.03	0.24±0.12
Flavonoid	8.11±0.14	4.25±0.16	1.90±0.07
Glikosida sianogen	ND	ND	0.06±0.02
Alkoloid	0.51±0.21	0.14±0.00	0.72±0.12
Fenol	3.41±0.64	2.94±0.13	6.14±1.28
Steroid	1.21±0.14	1.88±0.19	0.09±0.00

Sumber: Arukwe et al (2012)

Keterangan ND = *not detected* (tidak terdeteksi)

Buah alpukat merupakan buah yang sangat bergizi karena kandungannya, selain itu dapat mencegah beberapa penyakit seperti jantung, kanker, tekanan darah tinggi, diabetes hingga mengurangi kadar kolestrol dalam tubuh Chandra et al, 2013). Selain itu, nutrisi dalam alpukat mampu memenuhi kebutuhan harian tubuh sepeerti menjaga berat badan, mencegah sembelit, mengendalikan tekanan darah, menjaga kesehatan mata, dan jantung, mengurangi resiko gangguan metabolik hingga mencegah cacat lahir pada janin (Hartati et al., 2022).

2.4 Bawang Putih

2.4.1 Morfologi

Bawang putih termasuk dalam tanaman parenial herba dengan membentuk umbi. Bawang putih tumbuh secara berkelompok dan berdiri tegak setinggi 30-75 cm. Batang yang muncul pada permukaan tanah merupakan batang semu yang tersusun atas pelepah daun dan batangnya terletak di dalam tanah. Bawang putih membentuk umbi berwarna putih dengan jumlah anak bawang sebanyak 8-20. Akar tumbuh dari pangkal batang dengan berbentuk serabut kecil sepanjang kurang dari 10 cm. Bawang putih biasanya tumbuh di dataran tinggi dengan tekstur tanah

lempung berpasir atau lempung berdebu pada pH netral. Suhu optimal untuk pertumbuhan bawang putih antara 20-25°C dengan curah hujan 1.200 – 2.400 mm pertahun. (Santoso, 2000).



Gambar 2. 4 Tanaman Bawang Putih (*Allium sativum* L)

2.4.2 Klasifikasi

Klasifikasi bawang putih (*Allium sativum* L)

Regnum	: Plantae
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Liliales
Familia	: Liliaceae
Genus	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>Allium sativum</i> (Rosanti, 2013).

2.4.3 Kandungan dan Khasiat

Karakteristik kimia, total fenol dan antioksidan pada bawang putih berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Daniela et al. (2021) dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Karakteristik kimia, total fenol dan antioksidan pada bawang putih

No.	Parameter	Bawang putih
1.	Kadar air(%bb)	63,767±1,119
2.	Kadar abu (%bk)	3,697±0,055
3.	Kadar protein (%bk)	2,414±0,111
4.	Kadar lemak(%bk)	1,118±0,084
5.	Total fenol (µgGAE/mg)	1,066
6.	Antioksidan (IC50) (µg/ml)	49,488±2,299

Bawang putih diduga memiliki khasiat seperti antibakteri, antiviral, antifungi, antiprotozoa dan antiparasit yang bisa membantu menyembuhkan radang pada kulit akibat infeksi mikroorganisme. Selain itu, bawang putih juga berkhasiat digunakan sebagai obat dalam seperti mengurangi kadar kolesterol dalam darah, mencegah serangan jantung, menstabilkan system pencernaan yang terganggu, meningkatkan daya tahan tubuh, mengobati nyeri sendi, menghambat penuaan sel otak, mengurangi gejala diabetes melitus, asma dan lain sebagainya. Sebagai obat luar digunakan untuk mengobati jerawat, bisul, sakit gigi, infeksi jamur pada kaki, infeksi telinga, mengobati panu, kadas, kurap dan lain sebagainya (Dewi et al., 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nupus et al (2022) bahwa kandungan metabolic sekunder pada bawang putih seperti senyawa flavonoid berperan sebagai antivirus pada dengue dengan cara kerja menghambat enzim polymerase pada virus dengue yang berfungsi sebagai enzim replikasi.

2.5 Biji Ketumbar

2.5.1 Morfologi



Gambar 2. 5 Biji Ketumbar

Biji ketumbar memiliki bentuk bulat hingga lonjong, dan bergerombol memiliki diameter 3-4 mm, bobot per 1000 butir ketumbar berkisar 20- 30g, gundul, memiliki bau aromatik, berwarna kecoklatan, kuning atau coklat. Rasa yang dimiliki ketumbar cukup berkarakteristik dan sedikit pedas. (Hijriah et al., 2022). Menurut (Martini et al., 2023) biji ketumbar (*Coriandrum Sativum*. L) merupakan bagian tanaman anggota familia apiaceae dengan akar tunggang. Tanaman ini tumbuh di suhu dingin dan daerah lembab. Sedangkan menurut (Hamidah, 2020) tanaman ini dapat beradaptasi di dataran rendah hingga tinggi, dan biji ketumbar biasanya dapat dibudidayakan dengan baik setiap tahunnya.

2.5.2 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Apiales
Famili	: Apiaceae
Genus	: <i>Coriandrum</i>
Spesies	: <i>Coriandrum sativum</i> L. (Asgarpanah & Kazemivash, 2012)

2.5.3 Kandungan dan Khasiat

Setiap tumbuhan memiliki dua jenis senyawa metabolit: primer dan sekunder. Metabolit primer mendukung pertumbuhan, sedangkan metabolit sekunder dapat memiliki efek farmakologis seperti antimikroba, antivirus, sitotoksik, dan sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian uji fitokimia yang telah dilakukan Rosmiati & Aritonang, (2020) terhadap ekstrak biji ketumbar positif mengandung senyawa flavonoid, tannin, triterpenoid, alkaloid, saponin dan fenolik. Menurut penelitian Asgarpanah & Kazemivash, (2012), senyawa fenolik yang terkandung di dalam biji ketumbar memiliki potensi antioksidan yang baik. Penelitian dilakukan dengan mereaksikan ekstrak biji ketumbar dengan radikal bebas DPPH (*diphenylpicrylhydrazyl*) sehingga radikal bebas ini dapat dinetralkan.

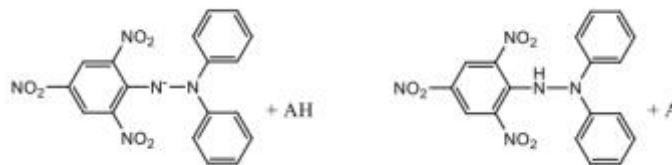
Beberapa penelitian menyatakan bahwa biji ketumbar memiliki efek farmakologi, di antaranya: diuretik, antioksidan, antikonvulsan, sedatif, antimikroba, antimutagen serta antihelminthes (Purwanti et al., 2018). Biji ketumbar memiliki banyak manfaat terutama pada sektor kesehatan mulai dari antibakteri hingga antikanker. Biji ketumbar juga memiliki aktivitas antioksidan dan beberapa manfaat lain yang meliputi: aktivitas, antihiperqlikemi, hipolipidemik, antiantelmintik, antiaksenti (gelisah), detoksifikasi logam, diuretik, dan antijamur (Meilina et al., 2021).

2.6 Uji Antioksidan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Metode DPPH sering digunakan karena sederhana, hanya memerlukan spektrofotometri UV untuk deteksi, dan DPPH adalah radikal bebas yang stabil yang umum digunakan pada sampel padat atau cair (Hartanto & Sutriningsih, 2018). DPPH memiliki massa molar relatif (DPPH; $C_{18}H_{12}N_5O_6$, M-394.33), adalah

radikal bebas stabil yang memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm. Kemampuan antioksidan dalam menghambat DPPH dinyatakan dalam ppm, diukur setelah inkubasi 30-40 menit dengan campuran ekstrak dan DPPH. (Purwanto et al., 2017).

Mekanisme kerja dari DPPH ini adalah dengan menerima atom hidrogen dari antioksidan yang direaksikan (Ikhrar et al., 2019). Ketika antioksidan bereaksi dengan DPPH, radikal bebas yang stabil menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen dan direduksi menjadi DPPHH sehingga mengakibatkan absorbansi menurun dari DPPH (Septian Then et al., 2022).



Gambar 2. 6 Reaksi DPPH terhadap antioksidan

Radikal DPPH menampilkan penyerapan spektrum UV-Vis yang intens. Ketika larutan DPPH dicampur dengan suatu zat yang dapat menyumbangkan atom hidrogen, radikal bebas akan tereduksi dengan ditandai perubahan-perubahan larutan dari ungu menjadi kuning (Baliyan et al., 2022).

2.7 Sumber Belajar

Sumber belajar adalah suatu hal yang sangat penting bagi seorang guru dalam membuat rancangan dan memahami materi yang akan diajarkan. Sumber belajar adalah segala hal yang mencakup apa saja yang mampu digunakan seorang guru untuk belajar, mengajar, dan menampilkan kompetisinya (Far & Pattiasina, 2021). Sumber belajar yang bermacam-macam dapat menjadikan guru mampu untuk

membuat dan membuka wawasan lebih luas dan lebih bagus lagi. Pada dasarnya, sumber belajar dapat berfungsi sebagai saluran komunikasi yang mampu membuat interaksi dengan siswa pada saat kegiatan pembelajaran. Fungsi dari sumber belajar antara lain adalah untuk meningkatkan produktivitas pendidikan, memberikan kemungkinan pendidikan yang lebih fleksibel, memberikan dasar-dasar pembelajaran yang lebih ilmiah, dan untuk meningkatkan tingkat pembelajaran yang lebih membawa keterbaruan (Suhirman, 2018).

Menurut Supriadi, (2015) sumber belajar adalah suatu upaya dalam bidang Pendidikan yang dijadikan pedoman untuk menyelesaikan permasalahan dalam bidang suatu pembelajaran. Sumber belajar sangat beranekaragam bentuknya, meninjau dari pemanfaatannya dalam kebutuhan suatu pembelajaran. Sebelum dimanfaatkan dalam proses pembelajaran, menurut Handoko et al., (2022), sumber belajar harus terlebih dahulu dianalisis didasarkan beberapa poin seperti berikut:

a. Kejelasan potensi

Potensi dari suatu objek sumber belajar harus jelas terlebih dahulu sebelum diterapkan dalam proses pembelajaran. Potensi dari sumber belajar yang akan digunakan ini harus sesuai dengan ketersediaan objek dan masalah dari proses pembelajaran yang selaras dengan hasil dari suatu penelitian yang akan digunakan sebagai sumber belajar.

b. Kesesuaian dengan tujuan

Hasil penelitian yang akan digunakan sebagai sumber belajar harus sesuai dengan Capaian Pembelajaran (CP) yang berlaku dalam proses pembelajaran yang akan dituju.

c. Kejelasan sasaran

Sasaran dari hasil penelitian yang akan digunakan sebagai pemanfaatan sumber belajar harus jelas dan sesuai. Karena kejelasan sasaran ini yang nantinya akan menunjukkan efektivitas hasil penelitian sebagai sumber belajar.

d. Kejelasan informasi yang diungkap

Informasi dari hasil penelitian yang akan digunakan sebagai sumber belajar harus jelas dan mudah dimengerti. Karena hasil dari penelitian ini jika dimanfaatkan sebagai sumber belajar harus memberikan informasi yang bisa diakses oleh objek yang akan dituju.

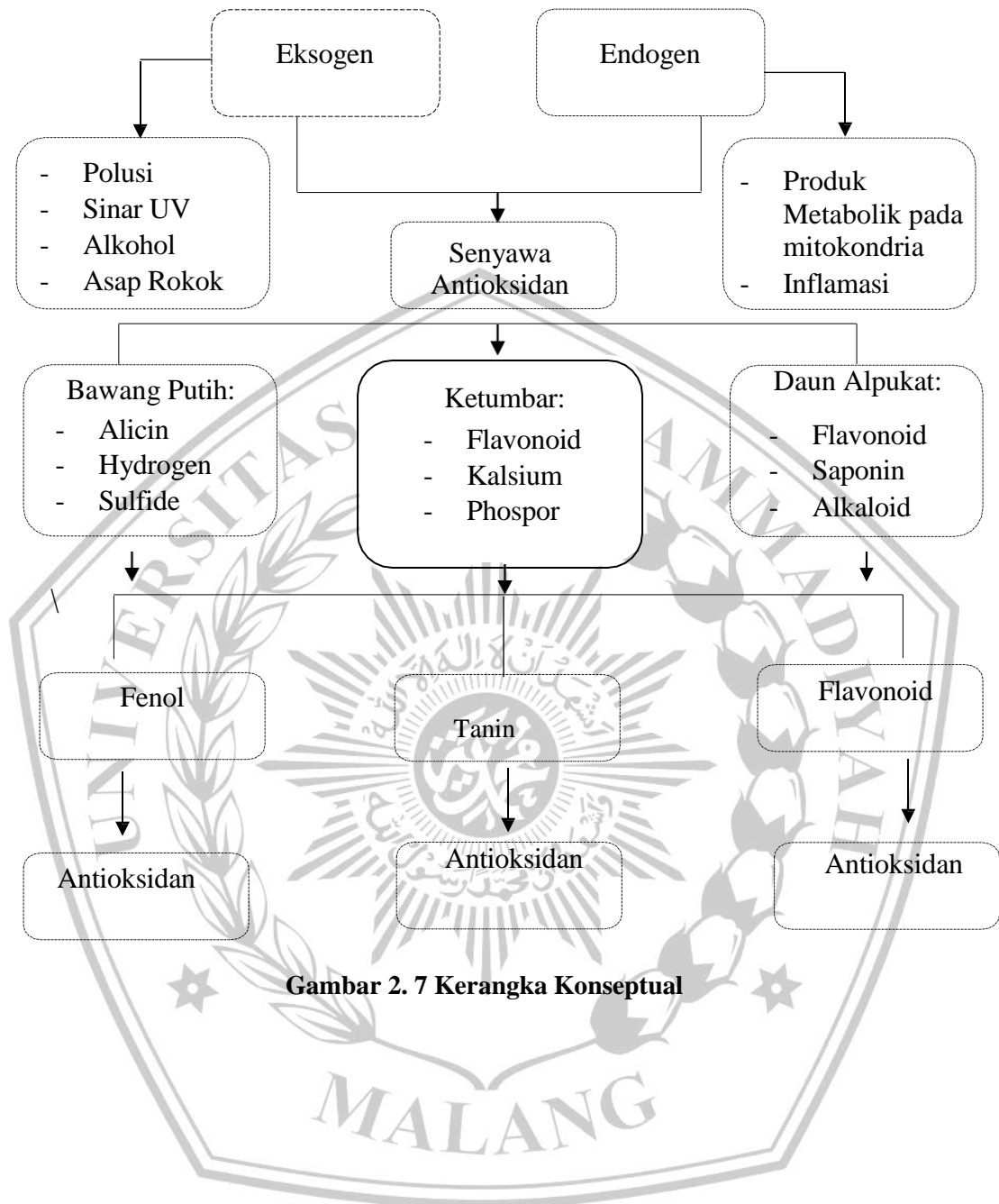
e. Kejelasan pedoman eksplorasi

Pedoman eksplorasi dalam melakukan penelitian juga merupakan sebuah hasil dari penelitian. Pedoman eksplorasi ini berupa metode, alat dan bahan dalam penelitian yang bisa dijadikan informasi bagi objek sumber belajar yang akan diterapkan.

f. Kejelasan perolehan yang diharapkan

Perolehan hasil penelitian yang akan digunakan sebagai sumber belajar harus meliputi aspek kognitif, afektif dan psikomotorik serta dapat membangun karakter objek yang akan dituju.

2.8 Kerangka Konseptual



Gambar 2. 7 Kerangka Konseptual

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen sesungguhnya (*true eksperiment*). Tujuan *true eksperiment* adalah untuk melihat akibat dari suatu perlakuan dengan cara membandingkan satu atau lebih kelompok pembanding yang menerima perlakuan lain untuk diketahui perbedaannya (Isnawan et al., 2020).

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah jenis metode ekstraksi (dekok dan infus) dan faktor kedua adalah perlakuan yaitu rasio kombinasi ekstrak yaitu kombinasi rasio 2.2.1, 2.1.2 dan 1.2.2. Kombinasi perlakuan berdasarkan dua faktor ini adalah sebanyak enam.

Menurut Hudori, (2018) penentuan banyaknya ulangan menggunakan rumus seperti berikut sebagai berikut: $(t - 1)(r - 1) \geq 15$

Keterangan : t = treatment/perlakuan

: r = replikasi/ulangan

$$: (6 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$: (5)(r - 1) \geq 15$$

$$: 5r - 5 \geq 15$$

$$: 5r \geq 15 + 5$$

$$: 5r \geq 20$$

$$: r \geq 4$$

Tabel 3. 1:Jumlah Kombinasi Perlakuan dan Ulangan

Metode Ekstraksi	Rasio Kombinasi	Ulangan			
		I	II	III	IV
Dekok (D)	2.2.1	D.2.2.1 I	D.2.2.1 II	D.2.2.1 III	D.2.2.1 IV
	2.1.2	D.2.1.2 I	D.2.1.2 II	D.2.1.2 III	D.2.1.2 IV
	1.2.2	D.1.2.2 I	I.1.2.2 II	I.1.2.2 III	D.1.2.2 IV
Infus (I)	2.2.1	I.2.2.1 I	I.2.2.1 II	I.2.2.1 III	I.2.2.1 IV
	2.1.2	I.2.1.2 I	I.2.1.2 II	I.2.1.2 III	I.2.1.2 IV
	1.2.2	I.1.2.2 I	I.1.2.2 II	I.1.2.2 III	I.1.2.2 IV

Berdasarkan rumus diatas, maka perlakuan dalam penelitian ini masing-masing dilakukan dalam empat kali ulangan sehingga secara keseluruhan menghasilkan 24 sampel.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang yang bertempat Jl. Tlogomas No. 246 Malang. Penelitian ini dilaksanakan kurang lebih 3 minggu.

3.4 Populasi, Sampel dan Teknik Sampling

3.4.1 Populasi

Populasi diperlukan karena sebagai sumber data. Populasi dalam penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea americana Mill*), biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*), dan bawang putih (*Allium sativum*) yang didapat dari pasar

Landungsari, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang.

3.4.2 Sampel

Sampel penelitian ini didapatkan dari Pasar Landungsari Malang. Sampel dalam penelitian ini adalah kombinasi daun alpukat (*Persea americana Mill*), biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) dan bawang putih (*Allium sativum*). Terdapat tiga jenis rasio kombinasi yang digunakan adalah 2.2.1, 2.1.2 dan 1.2.2.

3.4.3 Tekning Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *simple random sampling*. Jumlah sampel dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus $(t - 1)(r - 1) \geq 15$ (Hudori, 2018) sehingga mendapatkan jumlah ulangan sebanyak 4. Menurut Ghasemzadeh (2010) melakukan uji antioksidan dengan alat spektrofotometer dengan 4 kali pemeriksaan atau pengulangan pada sampel.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi yang dilakukan pada kombinasi daun alpukat (*Persea americana Mill*), biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*), dan bawang putih (*Allium sativum*) dengan pelarut etanol yaitu dekok dan infus.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan pada kombinasi daun alpukat (*Persea americana Mill*), biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*), dan bawang putih (*Allium sativum*).

3.5.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea Americana Mill*), biji ketumbar (*Coriandrum Sativum L.*), dan bawang putih (*Allium Sativum*) yang didapatkan dari pasar berlokasi di landungsari, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang.

3.6 Definisi Operasional

- a. Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ dengan titik didihnya $78,4^\circ \text{C}$. Etanol memiliki sifat tidak berwarna, dapat bercampur dengan air. Dalam dunia medis, etanol digunakan sebagai bahan untuk sterilisasi permukaan (mejakursi), sebagai pengawet atau pelarut dalam obat, dan digunakan secara luas sebagai pelarut di industri dan penelitian (BPOM, 2014).
- b. Fenol adalah senyawa fenolik merupakan kelompok senyawa terbesar yang berperan sebagai anti oksidan pada tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol, yaitu gugus hidroksi yang terikat cincin aromatik sehingga mudah teroksidasi dengan menyubangkan atom hidrogen pada radikal bebas (Zuraida et al., 2017).
- c. Antioksidan adalah substansi yang diperlukan untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Radikal bebas adalah atom yang tidak stabil karena kehilangan pasangan elektronnya (Riza Marjoni & Devi Novita, 2015).

- d. Daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang termasuk dalam famili tumbuhan *Lauraceae* yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat yang sangat penting sebagai obat tradisional untuk pengobatan seperti sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering sakit gigi, bengkak karena peradangan, dan kencing manis (Anggorowati et al., 2016b).
- e. Biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) merupakan Salah satu tanaman yang memiliki potensi antioksidan adalah biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) yang mengandung saponin, flavonoid, dan vitamin C yang dapat mencegah penyakit yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Hijriah et al., 2022b).
- f. Bawang putih (*Allium sativum* L.) merupakan tanaman dari keluarga Alliaceae yang memiliki antioksidan alami. Zat kimia yang terdapat pada bawang putih yang memiliki aktivitas antioksidan adalah *allicin* dan *S-allyl cysteine*, serta senyawa polar fenolik, dan steroid (Romsiah et al., 2020).

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini, antara lain:

Tabel 3. 2 Alat dan Bahan

No	Alat	Bahan
1	Timbangan analitik	1
2	Gunting	1
3	Erlemeyer	3 Buah
4	Beaker glass	5 Buah
5	Spatula	5 Buah
6	Gelas ukur	3 Buah
7	Corong kaca	1 buah
8	Evaporator vakum	1 buah
9	Pipet tetes	3 buah

10	Pipet mikro	2 buah
11	Spektrofotometer UV-VIS	1 buah
12	Kain saring/kertas saring	Seperlunya
13	Labu ukur	15 buah
14	Inkubator	1 buah
15	Botol warna	3 buah
16	Oven	1 buah
17	Pipet ukur	2 buah
18	Alumunium foil	Seperlunya

Tabel 3. 3 Bahan

No	Bahan	Jumlah
1	Daun alpukat	40%
2	Biji ketumbar	30%
3	Bawang putih	30%
4	Etanol pa	30 ml
5	Aquades	1500 ml
6	DPPH	
7	Natrium karbonat 7%	
8	Asam galat	
9	Folin cicateau	

3.7.2 Metode Ekstraksi

A. Metode Dekok

1. Kumpulkan daun alpukat lalu cuci dengan bersih setelah itu dipotong kecil-kecil.
2. Kemudian dikeringkan dengan cara menutupkan kain hitam untuk mencegah pengaruh langsung dari cahaya matahari.
3. Daun alpukat yang sudah dikeringkan kemudian ditimbang sebanyak 10 g

dan ditambah aquades sebanyak 100 mL lalu dimasak selama 30 menit apabila suhu sudah mencapai 100°C.

4. Saring bahan dengan kertas saring kedalam gelas beker dan ditambah air panas secukupnya dalam ampas lalu disaring kembali sampai diperoleh volume infusa sebanyak 100 mL.
5. Memasukkan sampel infusa kedalam botol kaca dan dilabelkan sesuai jenisnya.
6. Kemudian ulangi langkah 1 hingga 5 bagi bahan biji ketumbar dan bawang putih.

B. Metode Infus

- 1) Kumpulkan daun alpukat lalu cuci dengan bersih setelah itu dipotong kecil-kecil.
- 2) Kemudian dikeringkan dengan cara menutupkan kain hitam untuk mencegah pengaruh langsung dari cahaya matahari.
- 3) Daun alpukat yang sudah dikeringkan kemudian ditimbang sebanyak 10 g dan ditambah aquades sebanyak 100 mL lalu dimasak selama 15 menit apabila suhu sudah mencapai 90°C.
- 4) Saring bahan dengan kertas saring kedalam gelas beker dan ditambah air panas secukupnya dalam ampas lalu disaring kembali sampai diperoleh volume infusa sebanyak 100 mL.
- 5) Memasukkan sampel infusa kedalam botol kaca dan dilabelkan sesuai jenisnya.
- 6) Kemudian ulangi langkah 1 hingga 5 bagi bahan biji ketumbar dan bawang putih.

3.7.3 Pembuatan Larutan Ekstrak Tunggal Daun Alpukat, Biji Ketumbar dan Bawang Putih

- a. Setiap sampel dari masing-masing metode ekstraksi yang didapatkan tadi, dipipet sebanyak 2,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diisi dengan etanol sampai garis tanda batas (konsentrasi 100 ppm) (Rikantara et al., 2022).

3.7.4 Pembuatan Larutan Kombinasi Ekstrak Daun Alpukat, Biji Ketumbar dan Bawang Putih

- a. Kombinasi ekstrak dibuat berdasarkan rasio 2.2.1, 2.1.2 dan 1.1.2.
- b. Untuk rasio pertama yaitu 2.2.1, larutan ekstrak daun alpukat diambil sebanyak 1 mL (40 ppm), larutan ekstrak biji ketumbar sebanyak 1 mL (40 ppm) dan larutan ekstrak bawang putih sebanyak 0,5 mL (20 ppm).
- c. Rasio kedua yaitu 2.1.2, larutan ekstrak daun alpukat diambil sebanyak 1 mL (40 ppm), larutan ekstrak biji ketumbar sebanyak 0,5 mL (20 ppm) dan larutan ekstrak bawang putih sebanyak 1 mL (40 ppm).
- d. Rasio ketiga yaitu 1.2.2, larutan ekstrak daun alpukat diambil sebanyak 0,5 mL (20 ppm), larutan ekstrak biji ketumbar sebanyak 1 mL (40 ppm) dan larutan ekstrak bawang putih sebanyak 1 mL (40 ppm) (Rikantara et al., 2022).

3.7.5 Pelaksanaan Penelitian Uji Total Fenol

- a. Asam galat ditimbang sebanyak 50 mg kemudian tambahkan 1 mL etanol lalu tambahkan aquades sampai volume akhir 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/mL.

- b. Dari larutan induk, dipipet 1 mL lalu diencerkan dengan aquades sampai volume akhir 10 mL. Tambahkan reagen *Folin-Ciocalteau* sebanyak 1 mL diaduk sampai homogen dan tunggu selama 5 menit.
- c. Menambahkan larutan 10 mL Na₂CO₃ 7% lalu aduk hingga homogen.
- d. Menginkubasi selama 90 menit pada suhu kamar.
- e. Mengukur serapan panjang gelombang serapan maksimum 765 nm, kemudian membuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/mL) dengan serapan.
- f. Ulangi langkah a hingga e untuk masing-masing kombinasi perlakuan yang ada.

3.7.6 Peaksanaan penelitian Uji Aktivitas Antioksidan

A. Pembuatan Larutan DPPH

1. Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan kedalam etanol sebanyak 100 mL.
2. Membuat stok larutan DPPH pada masing-masing konsentrasi dengan menambahkan etanol hingga tanda batas (40 mL).
3. Larutan DPPH disimpan pada wadah yang terlindung dari cahaya matahari (Sinala & Dewi, 2019).

B. Pembuatan dan Pengukuran Kurva Baku (Blanko)

1. Larutan DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 2 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol 96% kemudian dikocok hingga homogen lalu diinkubasi kisaran ± 30 menit.
2. mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 nm – 800 nm (Sinala & Dewi, 2019).

C. Uji Aktivitas Antioksidan

1. Masing-masing sampel rasio kombinasi ekstrak diambil sebanyak 2 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan DPPH sebanyak 2 mL.
2. Setelah itu larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama \pm 30 menit dalam ruangan gelap (Rikantara et al., 2022).
3. Kemudian dilakukan uji absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm.
4. Menghitung nilai konsentrasi efektif atau IC_{50} menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ antioksidan} = \frac{A_c - A}{A_c} \times 100\%$$

Keterangan :

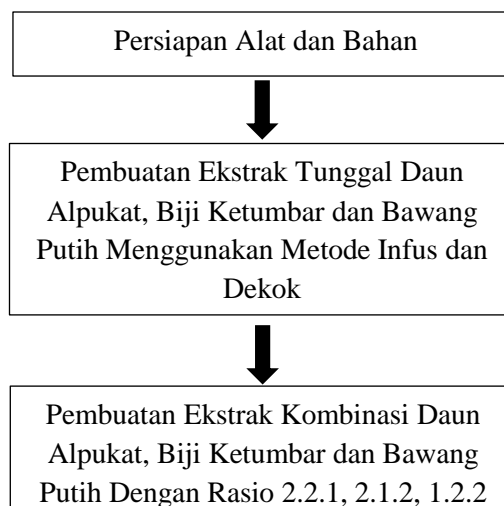
A_c = Nilai absorbansi control

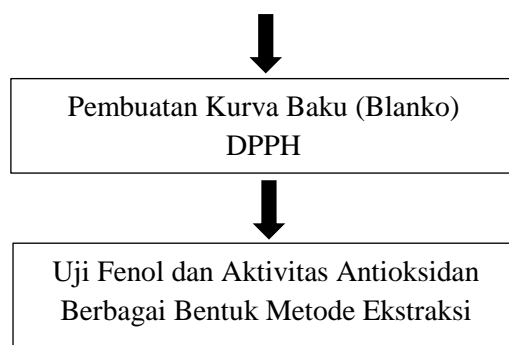
A = Nilai absorbansi sampel

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah 151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan (Irwinsyah et al., 2019).

3.7.7 Alur Penelitian

Alur pelaksanaan penelitian disajikan sebagai berikut:





3.8 Teknik Pengumpulan Data

Metode yang digunakan untuk pengambilan data dalam penelitian ini adalah observasi terstruktur. Teknik pengumpulan data secara langsung yang dirancang secara sistematis dengan melibatkan kegiatan melihat dan mencatat. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan di laboratorium terhadap objek perlakuan. Peneliti mengumpulkan data dari uji fenol dan aktivitas antioksidan kombinasi daun alpukat (*Persea Americana Mill*), biji ketumbar (*Coriandrum Sativum L.*), dan bawang putih (*Allium Sativum*) dengan metode dekok dan infus. Data dalam penelitian dikumpulkan dalam instrumen, untuk mengukur nilai variabel yang diteliti.

3.9 Teknik Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan kuantitatif. Digunakannya analisis kuantitatif untuk menghitung banyaknya senyawa fenol dan antioksidan pada ekstrak kombinasi daun alpukat (*Persea americana Mill*), biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*), dan bawang putih (*Allium sativum*) dengan menggunakan metode ekstraksi dekok dan infus. Analisis data kuantitatif menggunakan perhitungan statistika. Penelitian ini untuk menghitung statistika menggunakan SPSS. Uji yang digunakan yaitu *One Way Anova* untuk

membandingkan hasil dari kedua metode (dekok dan infus) dengan berbagai formulasi 2:2:1, 2:1:2 dan 1:2:2 yang diteliti. Analisis anova mempunyai data yang didistribusikan normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan's yang merupakan uji lanjutan untuk mengetahui perbedaan antar metode dan melihat perlakuan mana yang paling baik.

