

**LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN HASIL PENELITIAN**

Judul : *Aktivitas antioksidan pada Sayur Kailan Brassica Oleracea var. alboglabra dengan Berbagai Penyajian Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)*

Nama : *Audra Debra Inestasia Tarigan*

NPM : *20000076*

Dosen Pembimbing I



(dr. Henny Erina Saurmauli Ompusunggu, M.Biomed)

Dosen Pembimbing II



(dr. Terang Meliala Sp.PD, DTM&H)

Dosen Penguji



(dr. Dessy D. Harianja, Sp.F, M.H)

Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran



(dr. Ade Pryta Simaremare, M.Biomed)

Dekan Fakultas Kedokteran

Universitas HKBP Nommensen



(Dr. dr. Leo J. Simanjuntak, Sp.OG)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk atom atau molekul dalam tubuh yang memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif dalam mencari pasangan elektronnya yang membuat radikal bebas bersifat toksik terhadap biomolekul atau sel dalam tubuh.¹ Peningkatan jumlah radikal bebas dalam tubuh dapat disebabkan oleh proses metabolisme dan oksidasi dalam tubuh yang berlangsung saat bernafas, terpapar polusi dari luar tubuh (kendaraan dan asap rokok), olahraga fisik yang berlebihan, dan peradangan.^{2,3} Ketidakseimbangan produksi radikal bebas dalam tubuh dapat merangsang proses stres oksidatif yang terjadi akibat peningkatan radikal bebas berupa ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang dihasilkan dalam tubuh ketika tubuh tidak mampu menetralkan dan mengikat radikal bebas sehingga menyebabkan gangguan metabolisme dan dapat memicu berbagai penyakit.^{4,5}

Terdapat senyawa yang mampu menetralkan dan menyerap radikal bebas dalam tubuh yang disebut dengan antioksidan. Antioksidan mampu mengikat radikal bebas sehingga dapat mencegah penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya.³ Berdasarkan sumbernya antioksidan terbagi menjadi endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang diproduksi dalam tubuh berupa enzim sedangkan antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang bersumber dari luar tubuh yang berupa nutrisi dan sebagian besar berasal dari tumbuhan. Antioksidan endogen akan menjadi insufisien saat tubuh mengalami stres oksidatif sehingga diperlukan sumber antioksidan eksogen yang berasal dari nutrisi.⁶ Sumber antioksidan eksogen dalam bahan pangan dapat ditemukan pada sayur-sayuran salah satunya adalah *Brassica Oleracea Var. Alboglabra*.^{3,7}

Brassica oleracea var. Alboglabra atau yang lebih dikenal sebagai sayur kailan merupakan sayuran famili kubis-kubisan (*Brassicaceae*) yang juga dikenal sebagai *Chinese broccoli* dan memiliki nilai gizi tinggi yang sangat bermanfaat

bagi kesehatan manusia. Sayur kailan mengandung banyak sumber nutrisi seperti

vitamin, serat, dan mineral. Sayur kailan bermanfaat dalam menyehatkan kulit, membantu dalam sistem pencernaan, menetralkan zat asam, mencegah penyakit kanker dan infeksi dalam tubuh.⁸ Sayur kailan sebagai bahan makanan dapat dikonsumsi dengan bentuk mentah sebagai lalapan dan dapat diolah dengan bahan makanan lain.⁹ Sayur kailan tidak hanya dapat berbeda dalam pengolahan atau penyajiannya, saat ditanam, media tanam yang digunakan juga bervariasi seperti sayur kailan nonorganik yaitu sayur kailan yang dipupuk dengan pupuk kimia dan sayur kailan organik yaitu sayur kailan yang dipupuk dengan pupuk dari pembusukan sisa tumbuhan dan kotoran makhluk hidup lain.^{10,11} Dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Irianto (2012) terhadap sayur kailan seberat 100 gram terkandung 7540 IU vitamin A, 115 mg vitamin C, 62 mg Ca, dan 2,2 mg Fe.¹² Dari penelitian sebelumnya yang melakukan pengujian terhadap kandungan fitokimia antioksidan pada sayur kailan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) ditemukan empat kandungan antioksidan pada sayur kailan yaitu klorofil, karotenoid, vitamin C, dan fenolik total.¹³

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka peneliti tertarik untuk mengetahui aktivitas antioksidan sayur kailan *Brassica Oleracea* var. *alboglabra* pada penyajian mentah dan rebus menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

1.1. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana aktivitas antioksidan pada sayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*).

1.2. Hipotesis

- Terdapat aktivitas antioksidan pada sayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*) mentah.
- Terdapat aktivitas antioksidan pada sayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*) yang direbus.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian adalah

- Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antioksidan sayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*) dengan mentah.
- Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antioksidan sayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*) dengan direbus.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada:

1.5.1. Bagi Peneliti

Menambah wawasan peneliti tentang gambaran aktivitas antioksidan padasayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*).

1.5.2. Bagi Institusi

Sebagai tambahan literatur bagi institusi tentang aktivitas antioksidan pada sayuran.

1.5.3. Bagi Masyarakat

Sebagai informasi mengenai kandungan antioksidan yang baik untuk kesehatan pada sayur kailan.

1.5.4. Bagi Ahli gizi/ tenaga kesehatan

Sebagai informasi mengenai kandungan antioksidan pada sayur kailan untuk menjadi referensi dalam menentukan asupan gizi pasien.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan sehingga sangat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas dapat bereaksi dengan mengikat molekul terdekatnya dan menangkap elektron pada molekul tersebut dengan cepat untuk menjadi molekul yang stabil sehingga terjadi ketidakstabilan pada molekul yang elektronnya sudah diikat sehingga menyebabkan molekul tersebut mulai bereaksi dan terjadi reaksi berantai yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel tubuh.⁴

Radikal bebas dapat berupa radikal bebas endogen yaitu radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh dan eksogen yaitu radikal bebas yang berasal dari luar tubuh.¹⁴ Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui proses metabolisme tubuh yaitu proses pembakaran protein, karbohidrat dan lemak yang terjadi dalam mitokondria, dapat juga diproduksi akibat inflamasi ataupun kondisi iskemik dalam tubuh sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar tubuh melalui bermacam sumber seperti polusi udara dari kendaraan maupun asap rokok, makanan dan minuman yang dikonsumsi, dan radiasi.⁶

Radikal bebas terbagi menjadi beberapa kelompok yaitu superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH), dan radikal peroksil (RO_2) dan terdapat kelompok nonradikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) dan peroksida organik (ROOH), dan terdapat kelompok spesies nitrogen reaktif (RNS) yaitu Oksida nitrat (NO), nitrogen dioksida (NO_2), dan peroksinitrat ($OONO^-$).⁵

Pada dasarnya radikal bebas dalam tubuh akan diikat oleh senyawa yang disebut antioksidan sehingga radikal bebas yang awalnya tidak stabil dapat mencapai kestabilan tetapi kondisi patologis terjadi saat jumlah radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh mengalami ketidakseimbangan sehingga peningkatan jumlah radikal bebas ini memicu terjadi proses stress oksidatif dan merangsang peroksidasi pada sel sehingga menimbulkan kerusakan dan kematian pada sel tubuh.⁴ Stres oksidatif adalah keadaan yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara radikal bebas (pro-oksidan) dan antioksidan dalam tubuh yang disebabkan

oleh pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dalam jumlah yang besar melebihi kemampuan antioksidan dalam tubuh untuk menetralsirnya. Keadaan stres oksidatif ini sangat mempengaruhi proses dalam tubuh sehingga menyebabkan terjadi abnormalitas pada proses biokimia dan seluler.¹⁵

2.2. Antioksidan

Antioksidan adalah suatu zat penghambat reaksi oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit yang terjadi akibat radikal bebas.¹⁶ Antioksidan berdasarkan sumbernya terbagi menjadi dua yaitu antioksidan endogen yang dapat diproduksi oleh tubuh sendiri dan antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh yang diperlukan pada saat terjadi peningkatan radikal bebas di dalam tubuh dikarenakan tubuh tidak memiliki cadangan antioksidan yang berlebih sehingga perlu mendapat antioksidan tambahan berupa antioksidan eksogen.⁶

Antioksidan endogen adalah antioksidan yang berasal dari tubuh berupa enzim-enzim seperti Superoksida Dismutase (SOD), Katalase (Cat), dan Glutation peroksidase (Gpx). Sumber antioksidan yang berasal dari luar tubuh atau antioksidan eksogen dapat diperoleh dari makanan atau tumbuhan seperti buah-buahan, sayur-sayuran, dan rempah-rempah yang mengandung senyawa metabolit sekunder salah satunya adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik memiliki peran sebagai antioksidan dan antikanker dalam tubuh, senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan terdiri atas beberapa golongan antara lain alkaloid, tanin, fenolik dan flavonoid.^{17,18}

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang tersebar luas pada jaringan karotenoid dan klorofil yang berperan dalam memberikan warna ungu, oren, hijau, kuning, dan merah pada tumbuhan. Senyawa ini termasuk turunan dari fenolik dengan struktur kimia yaitu dua cincin aromatik benzene yang berikatan dengan tiga atom karbon (C6-C3-C6).¹⁹ Senyawa flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan glukosa sehingga bersifat polar.²⁰ Menurut Olivia dan Teresita

(2015) Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan dan memiliki peran sebagai antioksidan penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid.²¹

2.2.1. Kerja Antioksidan

Antioksidan berfungsi untuk menangkal dan menghentikan pembentukan radikal bebas dalam tubuh.³ Antioksidan dibutuhkan sebagai mekanisme pertahanan dalam mengatasi stres oksidatif yang terjadi akibat ketidakseimbangan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam tubuh yang merupakan salah satu radikal bebas berupa molekul atau atom dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya sehingga bersifat sangat reaktif dan dapat terbentuk melalui metabolisme tubuh, disebut juga sebagai radikal bebas endogen atau berasal paparan dari luar, disebut sebagai radikal bebas eksogen.²²

Berdasarkan fungsi dan cara kerjanya antioksidan dapat digolongkan menjadi kelompok primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer bekerja mencegah pembentukan radikal bebas baru dalam tubuh yaitu sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang dapat bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan mengubahnya menjadi senyawa-senyawa yang lebih stabil. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengikat atau menarik senyawa logam yang berupa pro-oksidan untuk mencegah reaksi oksidasi berantai, menangkap senyawa radikal bebas, menangkap oksigen, menguraikan hidropersida dengan mengubahnya menjadi senyawa non radikal, serta menyerap radiasi sinar UV atau deaktivasi singlet oksigen. Antioksidan tersier sendiri bekerja dalam memperbaiki kerusakan biomolekul tubuh yang terjadi akibat radikal bebas.⁶

2.3. Sayur Kailan

Brassica Oleracea var. *alboglabra* atau yang lebih dikenal sebagai sayur kailan (*Chinese broccoli*) merupakan salah satu jenis sayuran famili kubis-kubisan (*Brassicaceae*). Terdapat sumber vitamin pada kailan seperti vitamin A, B, C, serat dan mineral seperti Ca, P, Fe, Na, F, S, dan Cl. Sayur Kailan memiliki berbagai manfaat pada tubuh manusia yaitu menghaluskan kulit, sumber zat besi, dan kandungan antioksidan pada kailan bermanfaat untuk mencegah kanker dan

infeksi.⁸ Sayur kailan memiliki kandungan nutrisi yang tinggi karena mengandung banyak fitokimia yang meningkatkan kesehatan seperti glukosinolat, karotenoid, dan senyawa fenolik.¹³

Klasifikasi Sayur kailan sebagai berikut.^{23,24}

Kingdom : *Plantae*

Superdivisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Capparales*

Famili : *Brassicaceae Burnett*

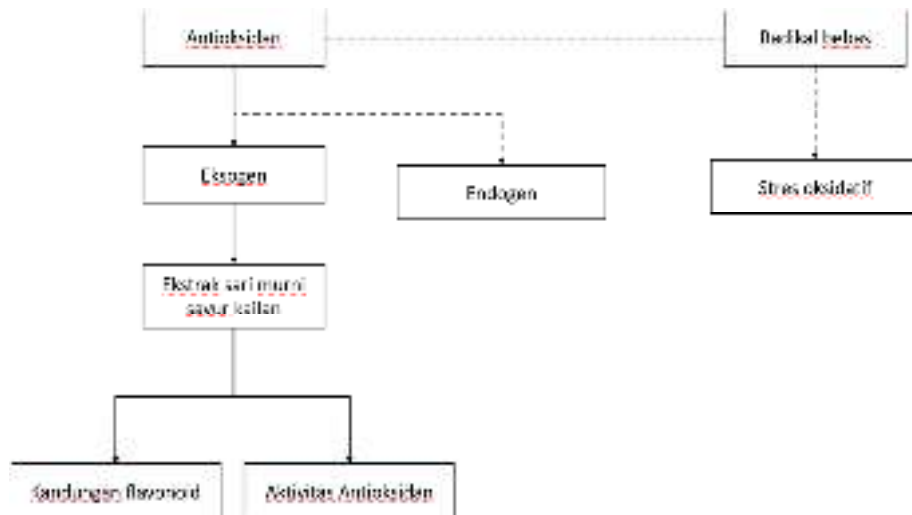
Genus : *Brassica L.*

Spesies : *Brassica oleracea var. alboglabra L.*



Gambar 2.1. Sayur Kailan²⁵

2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.2. Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.3. Kerangka Konsep

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni, yaitu penelitian yang dikerjakan di laboratorium dengan melakukan pengamatan aktivitas antioksidan pada sayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*).

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Pembuatan sari murni sayur kailan menggunakan alat juicer, pemeriksaan kandungan flavonoid, dan pemeriksaan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH UV-Vis dilakukan di Laboratorium Analisis Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September – Oktober 2023

3.3. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sari murni sayur kailan (*Brassica Oleracea* var. *alboglabra*) dalam kondisi segar dengan berbagai macam metode tanam yaitu organik dan nonorganik dan diikuti berbagai macam penyajian yaitu sayur kailan mentah atau segar dan sayur kailan yang direbus dengan dua kali pengulangan pada setiap metode tanam dan penyajiannya.

3.4. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah alat yang sering digunakan untuk menganalisis atau mendeteksi kadar senyawa antioksidan seperti flavonoid dan berbagai senyawa lainnya berdasarkan absorbansi cahaya ultraviolet (UV).²⁶

Ketika suatu radiasi elektromagnetik dipaparkan pada suatu molekul lalu radiasi itu diserap oleh molekul sesuai dengan struktur yang memiliki gugus

kromofor. Reagen yang dapat digunakan untuk menjadi pereaksi pada spektrofotometri UV-Vis adalah HCl pekat untuk uji kuantitatif flavonoid^{26,27}

3.5. Penentuan Operating Time

Operating time memiliki tujuan untuk menentukan lamanya waktu pengukuran stabil dalam mereduksi radikal bebas DPPH atau pada saat sampel yang diteliti yaitu ekstrak sayur kailan bereaksi sempurna dengan pereaksi warna. Hasil pengukuran waktu stabil pada awal 20 – 40 menit.^{28,29}

Instrumen yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis yang dimana *Operating time* ditentukan oleh panjang gelombang maksimum dengan lama waktu yang dibutuhkan sebesar 5 menit. Hal ini dilakukan berdasarkan waktu nilai absorbansi mulai stabil yang ditunjukkan dengan perbedaan nilai absorbansi setiap waktu yang dapat dilakukan selama 60 menit.²⁸⁻³⁰

3.6. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan adalah aktivitas yang menghambat atau menangkal molekul radikal bebas yang dapat diteliti dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah metode yang cepat, sederhana dan tidak perlu biaya sangat besar untuk melakukan uji aktivitasnya. Dasar mekanisme dari metode ini dengan reduksi larutan DPPH terhadap senyawa antioksidan dan kemudian akan bereaksi yang menghasilkan adanya perubahan warna DPPH yang dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis.^{31,32,33}

3.7. Penentuan IC₅₀

Uji antioksidan pada penelitian ini menggunakan parameter IC₅₀ yang merupakan nilai untuk melihat kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh konsentrasi sampel (ppm). Semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh maka dikatakan semakin tinggi aktivitas antioksidan dari suatu konsentrasi sampel.³⁴ Menurut Yuslianti (2018) kategori IC₅₀ terbagi menjadi sangat kuat (< 50 ppm),

kuat (50-100 ppm), sedang (101-250 ppm), lemah (> 250 – 500 ppm), dan sangat lemah (> 500 ppm).³⁵

3.8. Instrumen Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam pengujian ini adalah aluminium foil, batang pengaduk, beaker glass, *juice extractor*, bola hisap, corong gelas, gelas ukur, kertas perkamen, kertas saring, labu ukur 5ml ; 25ml dan 100ml, matt pipet, neraca analitik, pipet tetes, spuit 1ml dan 3ml, tisu, serbet, spatula, cawan, hotplate, oven, spektrofotometer UV-Vis, dan panci listrik.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah ekstrak sari murni sayur kailan (*Brassica Oleracea var.alboglabra*) kental, larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), metanol p.a, etanol, HCl pekat, amil alkohol, bubuk magnesium.

3.9. Prosedur Kerja

1. Mengurus surat izin penelitian di laboratorium farmasi analisis USU
2. Survey sayur kailan di pasar tradisional dan swalayan berastagi market
3. Pembelian sayur kailan yang segar dengan berbagai metode tanam :
nonorganik dan organik.
4. Persiapan sampel :
Pembersihan sayur kailan yang bebas dari debu, kotoran, atau tanah, sehingga harus dicuci dengan air mengalir secara berulang-ulang kemudian ditiriskan, lalu dikeringanginkan lalu

Penyajian :

- a. Mentah : dihaluskan menggunakan *juice extractor*³⁶
- b. Rebus : dimasukan ke dalam air mendidih, lalu ditiriskan. Setelah itu sampel dikeringkan dan dihaluskan menggunakan *juice extractor*. Kemudian sari yang didapat disaring menggunakan kertas saring di cawan lalu dipanaskan dengan hotplate hingga sedikit mengering.³⁶

5. Pembuatan ekstrak sari murni sayur kailan oleh peneliti dan tim laboratorium Farmasi Analisis USU. Setelah sampel sedikit mengering kemudian ditambahkan etanol p.a secukupnya lalu diaduk dan ditunggu selama 3 menit, setelahnya saring kembali dan dipanaskan lagi menggunakan hotplate hingga ekstraknya kental. Kemudian ditimbang sebanyak 3 kali, menggunakan neraca analitik dengan masing – masing sampel 25 mg.

6. Uji Flavonoid :

Sebanyak 15 ml ekstrak sari murni sayur kailan ditambah dengan 0,2 g logam Mg, ditetesi 2 tetes HCl pekat dan 3 tetes amil alkohol dan diaduk kuat. Jika terjadi perubahan warna maka positif mengandung flavonoid.³⁷

7. Uji aktivitas antioksidan :

7.1. Pembuatan LIB I DPPH dengan Konsentrasi 200 ppm

DPPH ditimbang sebanyak 20 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, dilarutkan dengan metanol dan dicukupkan hingga garis tanda. Lalu dihomogenkan sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm.³⁸

7.2. Pembuatan LIB II DPPH dengan Konsentrasi 40 ppm

Diambil 5 ml larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, kemudian ditambahkan metanol hingga garis tanda dan dihomogenkan (konsentrasi 40 ppm).³⁸

7.3. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Larutan DPPH konsentrasi 40 ppm dimasukkan ke dalam kuvet lalu ditempatkan pada spektrofotometer. Diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm.³⁸

7.4. Penentuan Waktu Kerja (Operating Time)

Larutan DPPH konsentrasi 40 ppm dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm setiap 1 menit selama 60 menit dan diamati waktu larutan tersebut mulai menghasilkan absorbansi yang stabil, yang akan digunakan sebagai waktu kerja (operating time) pada prosedur selanjutnya.³⁸

7.5. Pembuatan LIB Sampel Uji

Sebanyak 25 mg masing-masing ekstrak yang telah ditimbang kemudian dilarutkan dalam masing-masing labu ukur 25 ml dengan metanol lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 ppm).³⁸

7.6. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Sari Murni Sayur Kailan

Ekstrak sari murni sayur kailan nonorganik dan organik

Larutan induk dipipet menggunakan spuit 1 ml dan 3 ml sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml kemudian dimasukkan ke dalam 5 buah labu ukur 5 ml (untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm), kemudian dalam masing-masing labu ukur ditambahkan 1 ml larutan DPPH konsentrasi 200 ppm lalu volume dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, hal ini dilakukan untuk sampel pengulangan dan diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap, lalu diukur serapannya pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.³⁸

7.8. Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (ug/mL) dalam melakukan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu menghambat/meredam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak terdapat aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti terjadi peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji yang bertujuan melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (Ng/ml) sebagai absis (sumbu X dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y).³⁸

8. Mencatat hasil dan konsultasi pengolahan data dengan tenaga ahli, untuk mendapatkan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel.

3.10. Identifikasi Variabel

Variabel penelitian ini terdiri atas variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak sari murni sayur kailan dalam berbagai penyajian dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan.

3.11. Defenisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional Variabel	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Ekstrak sari murni sayur Kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) nonorganik mentah	Sayur kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) nonorganik diekstrak menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak dilarutkan dengan metanol pada labu 25 ml	Larutan induk dipipet 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml pada Labu ukur 5 ml dan ditambah volume dengan metanol hinggararis tanda	Rasio
2.	Ekstrak sari murni sayur Kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) nonorganik rebus	Sayur kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) direbus dengan air mendidih lalu diekstrak menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak dilarutkan dengan metanol pada labu 25 ml	Larutan induk dipipet 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml pada Labu ukur 5 ml dan ditambah volume dengan metanol hinggararis tanda	

Rasio

3.	Ekstrak sari murni sayur Kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) organik mentah	Sayur kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) nonorganik diekstrak menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak dilarutkan dengan metanol pada labu 25 ml	Larutan induk dipipet 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml pada Labu ukur 5 ml dan ditambah volume dengan metanol hinggararis tanda	Rasio
4.	Ekstrak sari murni sayur Kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) organik rebus	Sayur kailan (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Alboglabra</i>) nonorganik direbus dengan air mendidih lalu diekstrak menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak dilarutkan dengan metanol pada labu 25 ml	Larutan induk dipipet 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml pada Labu ukur 5 ml dan ditambah volume dengan metanol hinggararis tanda	sangat lemah (> 500 ppm)
5.	Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan diteliti dengan metode DPPH	Spektrofotometri UV-Vis	sangat kuat (< 50 ppm), kuat (50-100 ppm), sedang (101-250 ppm), lemah (> 250 – 500 ppm), dan	

Rasio

dinal

O
r

3.12. Analisa Data

Data hasil penelitian aktivitas antioksidan sayur kailan akan disajikan dalam bentuk tabel menggunakan aplikasi excel. Persentase penghambatan terhadap radikal DPPH dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi/ peredaman} : \quad \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100$$

$$\text{Nilai IC}_{50} \text{ regresi linear} : \quad Y = ax + b$$

Dimana :

$$a = \frac{(\sum XY) - \left[\frac{(\sum X)(\sum Y)}{n} \right]}{(\sum X^2) - \left[\frac{(\sum X)^2}{n} \right]} \quad b = \bar{Y} - a\bar{X}$$

dimana :

X = Konsentrasi bahan uji (ekstrak sari murni sayur kailan)

Y = % Peredaman

Klasifikasi nilai IC_{50} menurut Yuslianti (2018) :

- a. < 50 ppm : Sifat antioksidan sangat kuat
- b. 50-100 ppm : Sifat antioksidan kuat
- c. 101-250 ppm : Sifat antioksidan sedang
- d. > 250-500 ppm : Sifat antioksidan lemah
- e. >500 ppm : Sifat antioksidan sangat lemah