

**LEMBAR PENGESAHAN  
LAPORAN HASIL PENELITIAN**

**Judul : Aktivitas Antioksidan Sayur Pakcoy (*Brassica oleracea subsp. chinensis*)  
Dengan Penyajian Mentah Dan Rebus Menggunakan Metode DPPH (2,2-  
diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

**Nama : Priskila Meilorika Daeli**

**NPM : 20000070**

**Dosen Pembimbing I**



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

**Dosen Pembimbing II**



(dr. Monalisa Remana Sitinjak, Sp. S)

**Dosen Penguji**



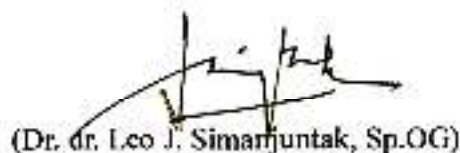
(dr. Susi Sembiring, Sp.An)

**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 adalah suatu molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan bersifat tidak stabil sehingga sangat reaktif dan radikal untuk berikatan dengan molekul lain. Secara endogen radikal bebas berasal dari 5% oksigen yang tidak digunakan sebagai energi dan diubah menjadi sisa metabolisme yang dikenal dengan sebutan *Reactive Oxygen Species* (ROS).<sup>1,2</sup> ROS juga didapat secara eksogen seperti asap rokok, polusi, alkohol, makanan, hal ini dapat memicu kerusakan sel yang akhirnya akan menimbulkan penyakit serius seperti stroke, alzheimer, diabetes dan sebagainya.<sup>3</sup> Selain itu, penyakit infeksi seperti Tuberkulosis maupun HIV/AIDS dan lainnya juga dapat menimbulkan radikal bebas karena ketika tubuh terinfeksi maka terjadi inflamasi atau peradangan yang menyebabkan adanya proses oksidasi sehingga menghasilkan radikal bebas di dalam tubuh misalnya superoksida.<sup>4,5</sup> Superoksida berubah menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan direproduksi menjadi radikal hidroksil ( $*OH$ ) sehingga dapat merusak sel. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen disebut stres oksidatif.<sup>6</sup> Keadaan ini membuat tubuh membutuhkan antioksidan yang dapat menghilangkan dan menetralkan radikal bebas untuk mencegah terjadi stres oksidatif.<sup>4</sup>

Antioksidan dapat diproduksi oleh tubuh (endogen) berupa enzim, seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase (antioksidan endogen). Namun untuk mencegah stres oksidatif, tubuh memerlukan lebih antioksidan yang dapat berasal dari luar tubuh (eksogen) dengan mengonsumsi makanan dan minuman yang berasal dari bahan pangan alami.<sup>4</sup>

Indonesia termasuk negara tropis yang kaya akan sumber daya alam terlebih dalam hal bahan pangan alami seperti buah-buahan, kacang-kacangan, sayur-sayuran dan sebagainya. Salah satu sayuran yang banyak mengandung antioksidan yaitu sayuran kubis dari famili *Brassicaceae*, salah satunya adalah sayur pakcoy

(*Brassica rapa subsp. Chinensis*).<sup>7</sup> Masyarakat biasanya mengonsumsi sayuran ini sebagai lalapan atau menjadi campuran berbagai masakan. Sayur pakcoy juga memiliki banyak manfaat untuk tubuh seperti mengurangi rasa gatal saat batuk, mengurangi sakit kepala, melancarkan pencernaan dan sebagainya. Dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Waryat (2020) setiap 100 g pakcoy mengandung 1,94 mg vitamin A, 0,09 mg vitamin B, 102 mg vitamin C dan 2,9 mg Fe serta mengandung senyawa fenolik yaitu flavonoid.<sup>8,9</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Indah Dwikartika dengan judul Skrining fitokimia ekstrak etanol daun pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*) dan uji antioksidan menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) didapatkan hasil aktivitas antioksidan dalam sayur pakcoy sesuai nilai IC<sub>50</sub> adalah sedang.<sup>10</sup> Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka peneliti tertarik untuk mengetahui gambaran aktivitas antioksidan dari ekstrak sari murni sayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*) dengan penyajian mentah dan rebus menggunakan metode DPPH.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana aktivitas antioksidan pada sayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*).

## **1.3. Hipotesis**

Terdapat aktivitas antioksidan pada sayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*).

## **1.4. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah

- a) Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antioksidan sayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*) dengan penyajian mentah.
- b) Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antioksidan sayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*) dengan penyajian rebus.

## **1.5. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada :

### **1.5.1. Bagi Peneliti**

Menambah wawasan peneliti tentang gambaran aktivitas antioksidan padasayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*).

### **1.5.2. Bagi Masyarakat**

Sebagai informasi kepada masyarakat bagaimana cara penyajian sayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*) yang baik dan benar.

### **1.5.3. Bagi Institusi**

Sebagai tambahan literatur bagi institusi tentang aktivitas antioksidan padasayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*).

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Radikal Bebas

Tubuh melakukan suatu proses kompleks yaitu metabolisme dengan cara mengubah makanan dan minuman dengan mengikat 95% oksigen untuk digunakan sebagai energi. Sedangkan 5% oksigen akan diubah menjadi sisa metabolisme misalnya dari karbohidrat dan protein yang dikenal dengan sebutan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS endogen), adapun yang berasal dari luar tubuh (ROS eksogen) seperti asap rokok, polusi, alkohol maupun makanan. Radikal bebas ini berasal dari pemecahan homolitik ikatan kovalen atau pasangan elektron bebas suatu atom.<sup>2,4</sup>

Radikal bebas juga dapat terbentuk pada saat proses inflamasi yaitu ketika perubahan nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen (NADPH) menjadi nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) dengan katalis NADPH oksidase, pada saat itu terjadi kebocoran O<sub>2</sub> dan berubah menjadi radikal superoksida (\*O<sub>2</sub>). Selain itu, radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh dapat terdiri dari superoksida (\*O<sub>2</sub>), hidroksil (\*OH), peroksil (ROO\*), hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), oksida nitrit (NO\*), peroksinitrit (ONOO\*), dan asam hipoklorit (HOCl), singlet oksigen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). Namun radikal bebas yang banyak terbentuk adalah superoksida yang akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan dalam tahap propagasi diubah menjadi radikal hidroksil (\*OH). Proses yang terus terbentuk mengakibatkan keadaan tidak seimbang antara pembentukan radikal bebas dan sistem antioksidan sehingga menyebabkan kerusakan sel atau stres oksidatif.<sup>2,4</sup>

Sifat reaktif dari radikal bebas ini terus menerus berupaya untuk mencari pasangan elektron dengan mengikat elektron atau molekul lain yang berada didekatnya lalu menghasilkan radikal bebas baru sehingga terjadi reaksi rantai dan menyebabkan kerusakan sel. Reaksi ini baru berhenti ketika radikal bebas ditangkap oleh antioksidan.<sup>1</sup>

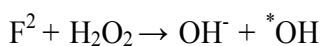
## 2.2. Mekanisme Radikal Bebas

Sumber radikal bebas dari endogen maupun eksogen terjadi dari mekanisme reaksi. Menurut Papas (1999) reaksi ini terdiri atas :

### a. Tahap insisi

Radikal bebas dibentuk kemudian menyerang lipid sehingga menghasilkan radikal lipid. Lalu, radikal lipid ini akan mengikat molekul oksigen dan membentuk radikal lipid peroksil dan menyerang molekul-molekul lipid lain dan berikatan dengan molekul hidrogen untuk menghasilkan lipid hidroperoksid, hal ini akan terus berlanjut seperti sebelumnya.

Contoh reaksi :



### b. Tahap Propagasi

Pada tahap ini terjadilah proses pemanjangan rantai radikal. Dimana reaksi ini melanjutkan proses oksidasi yang menyebabkan reaksi ini menyebar dengan semakin banyak molekul dari tahap insisi yang berikatan dengan radikal bebas atau semakin banyak terbentuk radikal baru.

### c. Tahap Terminasi

Pada tahap ini reaksi senyawa radikal berikatan dengan antioksidan sehingga menjadi stabil dan tidak reaktif.<sup>1</sup>

## 2.3. Antioksidan

Antioksidan berperan penting untuk kesehatan tubuh manusia karena dapat menangkal atau menghambat proses oksidasi dan pertumbuhan mikroorganisme yang menyebabkan terjadinya infeksi. Sumber antioksidan ada dari endogen atau yang dihasilkan oleh tubuh dan eksogen atau dari luar tubuh yang bisa didapatkan melalui tumbuhan seperti sayuran, buah-buahan dan sebagainya.<sup>4,10</sup>

Tubuh sebenarnya dapat memproduksi antioksidan seperti enzim superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase, tetapi karena kebutuhan

tubuh untuk menangkal stres oksidatif yang berlebih dan mengurangi resiko dari penyakit infeksi sehingga tubuh tetap memerlukan antioksidan eksogen yang alami dari sayuran atau buah-buahan dengan diolah menjadi makanan maupun minuman yang dikonsumsi setiap hari.<sup>11</sup>

Senyawa antioksidan memiliki struktur molekul yang mengikat molekul radikal bebas dengan memberi elektron lalu memutuskan reaksi rantainya tetapi senyawa ini tidak meninggalkan fungsi utamanya. Kandungan antioksidan dalam tumbuhan seperti senyawa fenolik, flavonoid, karotenoid, tanin, vitamin A, C, E, asam folat.<sup>4,10,11</sup>

#### **2.4. Mekanisme Antioksidan**

Mekanisme dari antioksidan dalam menghambat reaksi oksidasi atau stres oksidatif sangat bervariasi baik itu antioksidan endogen maupun eksogen. Tubuh memproduksi enzim antioksidan endogen utama yaitu superoksida dismutase, katalase dan glutathione peroxidase. Mekanisme superoksida dismutase atau dikenal juga dengan istilah SOD yaitu mengubah radikal anion superoksida ( $O_2^*$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang dimana ini sebagai substrat untuk katalase dan glutathione peroxidase. Katalase akan menguraikan  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ , kemudian oleh glutathione peroxidase akan mereduksi  $H_2O_2$  menjadi senyawa hidroperoksida organik.<sup>4,11</sup>

Antioksidan eksogen yang didapat dari tumbuhan seperti senyawa fenolik yang salah satu jenis utamanya adalah flavonoid yang akan menghambat atau menangkal reaksi oksidasi akibat dari inflamasi yang terjadi dalam tubuh. Flavonoid melepaskan ion hidrogen ( $H^+$ ) kepada peroksid lipid radikal ( $LOO^*$ ), hal ini dapat menghentikan atau menghambat terjadinya reaksi oksidasi lebih lanjut. Flavonoid juga dapat berfungsi menjadi antiinflamasi karena menghambat dengan membentuk sitokin proinflamasi seperti  $TNF-\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  dan interferon- $\gamma$ .<sup>4,12</sup>

#### **2.5. Sayur Pakcoy**

Sayuran sangat digemari oleh masyarakat karena mengandung banyak nutrisi yang baik untuk tubuh. Salah satu sayur yang digemari masyarakat Indonesia

yaitu sayur pakcoy atau dikenal nama latinnya : *Brassica rapa subsp. chinensis*. Sayur ini termasuk salah satu jenis sayuran famili kubis-kubisan (*Brassicaceae*), Sayur pakcoy ini diolah menjadi makanan maupun minuman, serta banyak diminati karena tanaman ini tidak hanya kaya nutrisi tetapi juga mudah dibudidayakan dan dapat tumbuh di iklim panas maupun dingin. <sup>13</sup>

Banyak manfaat yang didapat dengan mengonsumsi sayur pakcoy untuk tubuh seperti mengurangi rasa gatal saat batuk, mengurangi sakit kepala, melancarkan pencernaan dan sebagainya bahkan dapat mengurangi resiko akibat dari berbagai penyakit infeksi karena sayur pakcoy sangat bermanfaat bagi metabolisme tubuh dengan memiliki kandungan yang tinggi dan dapat berperan sebagai antioksidan seperti folat, serat glukosinolat, vitamin A, B, C, D, E dan K.<sup>8</sup> Namun, sayur pakcoy memiliki kandungan antioksidan yang kuat untuk menangkal radikal bebas seperti tanin, senyawa fenolik yaitu flavonoid. <sup>14</sup>

## 2.6. Klasifikasi Sayur Pakcoy

Klasifikasi Sayur Pakcoy sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi :

*Spermatophyta* Sub divisi :

*Spermatophyta* Kelas :

*Dicotyledonae*

Ordo : *Rhoeadales*

Famili : *Brassicaceae*

Genus : *Brassica*

Spesies : *Brassica rapa subsp. chinensis*.<sup>10</sup>



**Gambar 2.1** Pakcoy<sup>15</sup>

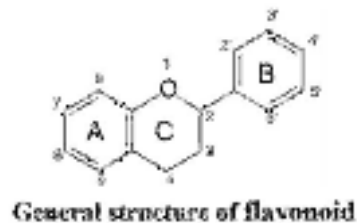


## 2.7. Nutrisi Antioksidan Sayur Pakcoy

Sayur pakcoy mengandung senyawa antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas seperti flavonoid dan fenolik :

### 2.7.1. Flavonoid

Flavonoid berasal dari metabolisme fenilpropanoid dan memiliki struktur dasar yaitu cincin benzena C<sub>15</sub> dari C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Kerangka C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> terdiri dari dua cincin benzena 6-karbon (cincin A dan B) yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik 3-karbon (cincin C). Maka flavonoid ini diklasifikasikan dalam subkelompok yang berbeda seperti flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, flavanol atau katekin dan antosianin. Efek antioksidan dari flavonoid telah terbukti kuat dan unggul sebagai anti-inflamasi.<sup>14,16</sup>



**Gambar 2.2** struktur flavonoid<sup>16</sup>

## 2.8. Bahan Pengujian Pada Ekstrak Sayur Pakcoy

### a. Larutan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Larutan DPPH adalah senyawa radikal dan digunakan sebagai bahan untuk uji antioksidan dengan prinsip antioksidan memberi elektron hidrogennya pada radikal DPPH sehingga tereduksi dan bersifat tidak radikal.<sup>17</sup>

### b. Bubuk Mg dan HCl Pekat

Pada uji flavonoid untuk ekstrak sari murni sayur pakcoy, bubuk Mg dan HCl pekat digunakan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium.<sup>17</sup>

c. Air Panas

Air panas digunakan sebagai bahan untuk penyajian rebus sayur pakcoy dengan suhu air 100<sup>0</sup>C. Suhu ini digunakan karena dapat membunuh mikroorganisme seperti bakteri, parasit dan sebagainya yang ada pada sayur pakcoy.<sup>18</sup>

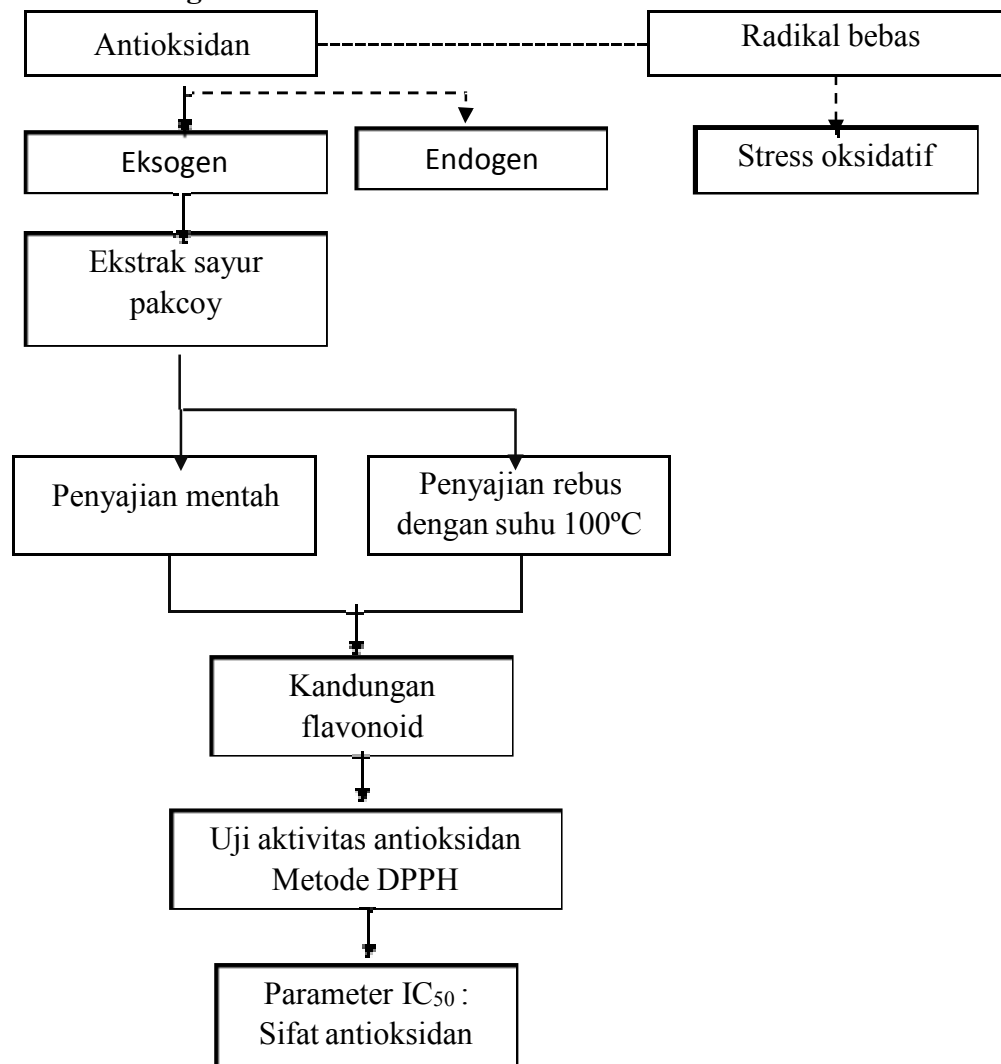
d. Metanol p.a

Metanol p.a adalah methanol pro analisis yang digunakan menjadi pelarut DPPH pada sampel selama 30 menit – 1 jam hingga terjadi perubahan warna dan ini menunjukkan kemampuan antioksidan dalam triasilgliserol rantai menengah lalu dapat mengetahui konsentrasi anntioksidan dalam sampel.<sup>10</sup>

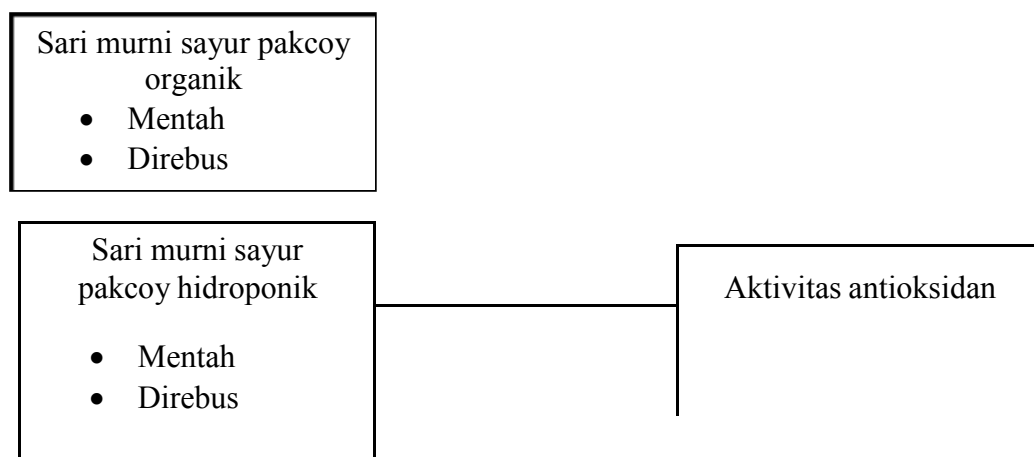
e. Ethanol

Etanol adalah pelarut yang sering digunakan saat proses ekstraksi sampel karena berperan penting sebagai pelarut senyawa flavonoid dan fenolik lalu, etanol tidak toksik dibanding metanol dan biaya murah.<sup>19</sup>

### 2.9. Kerangka Teori



### 2.10. Kerangka Konsep



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni, yaitu penelitian yang dikerjakan di laboratorium dengan melakukan pengamatan aktivitas antioksidan pada sayur pakcoy (*Brassica rapa* subsp. *Chinensis*) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*).

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1. Tempat Penelitian**

Pembuatan sari murni sayur pakcoy (*Brassica rapa* subsp. *Chinensis*) dan pemeriksaan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH spektrofotometer UV-Vis dilakukan di Laboratorium Farmasi Analisis Universitas Sumatera Utara.

##### **3.2.2. Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada September – Oktober 2023

#### **3.3. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak sari murni sayur pakcoy organik dan hidroponik dengan berbagai metode penyajian yaitu mentah dan rebus lalu dilakukan dua kali pengulangan.

#### **3.4. Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrometer UV-Vis adalah alat yang sering digunakan untuk menganalisis atau mendeteksi kadar senyawa antioksidan seperti flavonoid, tanin, dan sebagainya berdasarkan absorbansi cahaya ultraviolet (UV). Daerah ukur dari spektrofotometer UV-Vis berada pada panjang gelombang 400-800 nm.<sup>20</sup>

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

kromofor. Reagen yang dapat digunakan untuk menjadi pereaksi pada spektrofotometer UV-Vis adalah metanol untuk uji kuantitatif antioksidan<sup>20,21</sup>

### **3.5. Penentuan Operating Time**

Operating time bertujuan untuk menentukan lamanya waktu pengukuran stabil dalam mereduksi radikal bebas DPPH atau pada saat sampel yang diteliti yaitu ekstrak sayur pakcoy bereaksi sempurna dengan pereaksi hingga berubah warna. Hasil pengukuran waktu stabil pada awal 30 – 60 menit.<sup>22,23</sup>

Instrumen yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis yang dimana Operating time ditentukan oleh panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 1 menit. Hal ini dilakukan berdasarkan waktu nilai absorbansi mulai stabil yang ditunjukkan dengan perbedaan nilai absorbansi setiap waktu yang dapat dilakukan selama 30-60 menit.<sup>21,23</sup>

### **3.6. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Aktivitas antioksidan adalah aktivitas yang menghambat atau menangkalkan molekul radikal bebas yang dapat diteliti dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) 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 spektrofotometer UV-Vis.<sup>24-26</sup>

### **3.7. Penentuan IC<sub>50</sub>**

Uji antioksidan pada penelitian ini menggunakan parameter IC<sub>50</sub> yang merupakan nilai untuk melihat kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh konsentrasi sampel (ppm). Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh maka dikatakan semakin tinggi aktivitas antioksidan dari suatu konsentrasi sampel. Berdasarkan buku Prinsip Dasar Pemeriksaan Radikal Bebas dan Antioksidan oleh Yuslianti (2018), klasifikasi antioksidan IC<sub>50</sub> dibagi menjadi : <50 ppm (sangat kuat) 50-100

ppm (kuat), 101-250 ppm (sedang), 250-500 ppm (lemah), > 500 ppm (sangat lemah).<sup>27</sup>

### 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 ; 100ml, matt pipet, neraca analitik, pipet tetes, spuit 1ml ; 3ml, tisu, serbet, spatula, cawan, hotplate, oven, spektrofotometer UV-Vis, panci listrik.

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah ekstrak sari murni sayur pakcoy (*Brassica rapa subsp. chinensis*) kental, larutan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), metanol p.a, etanol, HCl pekat, amyl alkohol, bubuk magnesium, air panas mendidih.

### 3.9. Prosedur Kerja

1. Mengurus surat izin penelitian di laboratorium farmasi analisis USU
2. Survey sayur pakcoy di pasar tradisional dan swalayan.
3. Pembelian sayur pakcoy yang segar berbagai metode tanam : organik dan hidroponik.
4. Pembersihan sayur pakcoy yang harus bebas dari debu, kotoran, atau tanah, sehingga harus dicuci dengan air mengalir secara berulang-ulang kemudian ditiriskan.
5. Persiapan sampel :
  - a. Penyajian mentah : Sayur pakcoy yang sudah dicuci bersih setelahnya ditiriskan, kemudian dikeringanginkan dan dihaluskan menggunakan *juice extractor*, kemudian sari disaring menggunakan kertas saring di cawan lalu dipanaskan dengan hotplate hingga sedikit mengering.<sup>18</sup>
  - b. Penyajian rebus : Sayur pakcoy yang sudah dicuci bersih, masak air di panci listrik hingga mendidih (100<sup>0</sup>C) lalu dimasukkan kedalam air mendidih dengan suhu air 100<sup>0</sup>C, lalu ditiriskan. Setelah itu sampel

dihaluskan menggunakan *juice extractor*, kemudian sari disaring menggunakan kertas saring di cawan lalu dipanaskan dengan hot plate hingga sedikit mengering.<sup>18,28</sup>

6. Pembuatan ekstrak sari murni sayur pakcoy 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.

7. Uji flavonoid :

Sebanyak 15 ml ekstrak sari murni sayur pakcoy ditambah dengan 0,2 g logam Mg setelah itu ditetesi 2 tetes HCl pekat dan 3 tetes amyl alkohol lalu diaduk kuat. Jika berubah menjadi warna merah, kuning ke orange, kuning kehijauan artinya positif mengandung flavonoid.<sup>29</sup>

8. Uji aktivitas antioksidan :

8.1. 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.<sup>30</sup>

8.2. 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).<sup>30</sup>

8.3. 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.<sup>30</sup>

8.4. Penentuan Waktu Kerja (Operating Time)

Larutan DPPH konsentrasi 40 ppm dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur serapannya pada panjang gelombang 516 nm setiap 1 menit selama 30-60 menit dan diamati waktu larutan tersebut mulai menghasilkan absorbansi yang stabil, yang akan digunakan sebagai waktu kerja (operating time) pada prosedur selanjutnya.<sup>30</sup>

#### 8.5. 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).<sup>30</sup>

#### 8.6. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Sari Murni Sayur Pakcoy

Ekstrak sari murni sayur pakcoy organik dan hidroponik penyajian mentah dan rebus.

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.<sup>10</sup>

#### 8.7. Penentuan Nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ppm (ug/mL) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu menghambat/meredam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan



regresi dengan konsentrasi ekstrak ppm sebagai absis (sumbu X dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y).<sup>30</sup>

9. 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 dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah antioksidan. Variabel terikat adalah ekstrak sari murni sayur pakcoy.

### 3.11. Defenisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Oprasional Variabel	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Ekstrak sari murni sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) organik penyajian mentah	Sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) diekstrak dengan menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak sari murni kental, dilarutkan metanol pada labu ukur 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 hingga garis tanda	Rasio
2.	Ekstrak sari murni sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) organik penyajian rebus	Sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) direbus dengan air mendidih 100°C lalu diekstrak dengan menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak sari murni kental, dilarutkan metanol pada labu ukur 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 hingga garis tanda	Rasio

3.	Ekstrak sari murni sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) hidroponik penyajian mentah	Sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) diekstrak dengan menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak sari murni kental, dilarutkan metanol pada labu ukur 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 hingga garis tanda	Rasio
4.	Ekstrak sari murni sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) hidroponik penyajian rebus	Sayur pakcoy ( <i>Brassica rapa subsp. chinensis</i> ) direbus dengan air mendidih 100°C lalu diekstrak dengan menggunakan <i>juice extractor</i>	25 mg ekstrak sari murni kental, dilarutkan metanol pada labu ukur 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 hingga garis tanda	Rasio
7.	Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan diteliti dengan metode DPPH	Spektrofotometer UV-Vis	Nilai IC <sub>50</sub> : <50 ppm (sangat kuat) 50-100 ppm (Kuat), 101-250 ppm (Sedang), 250-500 ppm (Lemah), > 500 ppm (sangat lemah)	Ordinal

### 3.12. Analisa Data

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan gambaran aktivitas antioksidan sayur pakcoy menggunakan aplikasi *microsoft excel* kemudian untuk menentukan aktivitas antioksidan suatu sampel, maka diperlukan nilai IC<sub>50</sub> dengan menggunakan rumus persamaan garis regresi linier yang diperoleh dari plot antara nilai aktivitas peredaman radikal bebas (% peredaman) dengan konsentrasi.

Besarnya % peredaman DPPH dapat dihitung dengan:

$$\% \text{ Peredaman DPPH: } \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100$$

Keterangan:

A Kontrol = absorbansi kontrol

A Sampel = absorbansi sampel

Kemudian dari hasil yang didapatkan dilakukan perhitungan untuk mencari nilai IC<sub>50</sub>:

$$a = (\sum XY) - \left( \frac{\sum X \cdot \sum Y}{n} \right) / \left( \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} \right)$$

$$b = \bar{Y} - a\bar{X}$$

$$\text{rumus nilai IC}_{50} \text{ } y = ax + b$$

Keterangan :

$\sum X$  = total konsentrasi sampel dalam ppm

$\sum Y$  = total perendaman DPPH

$\sum XY$  = total dari hasil perkalian konsentrasi sampel dan perendaman DPPH

$\sum X^2$  = total dari hasil perkalian konsentrasi sampel dalam ppm

$\bar{Y}$  = hasil dari rata-rata perendaman DPPH

$\bar{X}$  = hasil dari rata-rata konsentrasi sampel

n = jumlah data

a = hasil dari perhitungan seluruh total

b = hasil dari nilai rata-rata

