

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 TEH

Teh merupakan bahan minuman penyegar yang sudah lama dikenal dan membudaya dalam kehidupan masyarakat Indonesia. Daun teh segar mengalami pelayuan dan proses pemanasan, untuk mengurangi kadar air didalamnya, sehingga memiliki rasa teh yang khas. Beberapa kandungan senyawa kimia dalam teh mampu memberi kesan warna, rasa dan aroma yang berbeda. Teh mengandung senyawa kimia yang bermanfaat bagi tubuh seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin (Rahmawati et al., 2022). Senyawa golongan flavonoid yaitu flavanol yang berfungsi sebagai antioksidan. Sebagian besar senyawa flavanol dengan sifat antioksidan yang paling banyak ditemukan dalam teh yaitu katekin seperti epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG) dan epigallocatechin gallate (EGCG).

Minuman teh memiliki banyak manfaat fisiologis dan nutrisi penting bagi manusia, diantaranya untuk meningkatkan sistem kekebalan, melawan infeksi virus dan melawan penyakit. Kualitas masing-masing teh dipengaruhi dari tanaman, lingkungan (iklim, tanah, dan ketinggian), musim panen, pemrosesan, dan penyimpanan. Proses pembuatan juga merupakan salah satu faktor terpenting yang mempengaruhi kualitas teh, dan secara substansial menentukan jenis dan unsur kimia yang terdapat dalam teh. Menurut Deswati & Maryam (2016) berdasarkan proses pengolahannya jenis teh dapat dibedakan menjadi teh tanpa fermentasi (teh putih dan teh hijau), teh semi fermentasi (teh oolong), serta teh fermentasi (teh hitam).

2.1.1 Teh hijau

Teh hijau merupakan teh yang banyak dikonsumsi di seluruh dunia setelah teh hitam, terutama di negara-negara Asia seperti China, Jepang, Vietnam, dan Korea Selatan. Teh hijau diolah dengan menginaktivasi enzim oksidase atau fenolase yang terdapat pada pucuk daun teh segar dengan menggunakan pemanasan atau penguapan menggunakan uap panas yang dapat mencegah oksidasi enzimatik terhadap katekin. Konsumsi teh hijau juga dipengaruhi oleh

rasa utama yang terdiri dari rasa pahit, enak dan sisa rasa manis. Teh hijau memiliki kandungan kimia pada umumnya yakni flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Komposisi daun teh hijau dapat ditentukan oleh asal geografis, ketinggian tempat tumbuh atau kondisi iklim yang berbeda (Bharti and Singh, 2019). Komponen fenolik teh hijau yang melimpah adalah flavonoid, yang merupakan lebih dari 70% dari total senyawa fenolik yang ada dalam warna teh hijau. Teh hijau mengandung 4–16% lemak, mineral, vitamin, protein, asam amino, sterol, perisa dan triterpenoid. Komponen lainnya mengandung asam galat dan flavonol (katekin) dalam jumlah yang lebih tinggi, sehingga antioksidan didalam teh hijau lebih baik dibandingkan dengan teh hitam.

2.1.2 Manfaat teh hijau

Teh hijau memiliki banyak manfaat kesehatan, seperti penghambatan pertumbuhan mikroba dan virus berbahaya, serta pengurangan risiko penyakit kardiovaskular dan kanker, karena efek katekin sebagai zat bioaktif utama. Teh hijau dipercaya sebagai sumber antioksidan bagi tubuh. Selain itu, kandungan mineral dan vitamin C di dalamnya meningkatkan potensi antioksidan dari jenis teh ini (Vishnoi et al., 2018). Teh hijau memiliki sifat antioksidan yang diperoleh dari katekin. Nilai total katekin teh hijau lebih besar dibandingkan teh hitam dan nilai IC50 DPPH teh hijau lebih kecil dibandingkan teh hitam sehingga aktivitas antioksidan teh hijau lebih besar dibandingkan teh hitam (Rudyanto M et al., 2022). Sifat katekin dapat berfungsi sebagai pelindung bagi membran butir darah dalam oksidasi. Polifenol yang ada dalam teh hijau juga memiliki sifat anti-inflamasi, antijamur, antimutagenik, antiklastogenik, antikarsinogenik, kemopreventif dan terapeutik (Lorenzo & Munekata, 2016).

2.2 KOMBUCHA

2.2.1 Pengertian kombucha

Kombucha berasal dari 2 kata, yaitu “kombu” dan “cha”. Kata “kombu” merupakan nama dari seorang tabib yang berasal dari korea. Sedangkan kata “cha” merupakan bahasa china yang berarti teh. Kombucha merupakan minuman fermentasi tradisional dari larutan teh dengan memanfaatkan kultur kombucha yang biasa disebut SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Kombucha

pertama kali ditemukan di china sebagai “*The Divine Che*” yang berarti “Obat Keabadian” atau “Teh Keabadian” pada tahun 220 SM. Minuman berkhasiat dan menyehatkan tersebut mulai dikenal, dikonsumsi dan diperjualbelikan oleh masyarakat di berbagai negara (Dufresne & Farnworth, 2000). Salah satu negara yang mengenal kombucha yaitu negara Indonesia. Di negara Indonesia, khususnya pulau jawa, penduduk biasa menyebut kombucha dengan sebutan “jamu super” ataupun “jamu dipo”.

Semakin berkembangnya penelitian, kombucha memiliki berbagai jenis. Mutu dan kualitas yang terkandung dalam kombucha dipengaruhi oleh bahan baku yang berperan dalam proses pembuatannya. Seperti komposisi gula dan komponen nutrisi lainnya dalam bahan baku akan menghasilkan mutu dan kualitas yang berbeda-beda. Berdasarkan bahan bakunya, kombucha dibedakan menjadi 6 yakni, kombucha teh, kombucha buah, kombucha kopi, kombucha daun tinggi fenol, kombucha rumput laut, dan kombucha bunga rosela (Zubaidah et al., 2022). Mikroorganisme yang berperan dalam proses pembuatan teh kombucha yaitu golongan bakteri *Acetobacter xylinum*, dan dari golongan khamir adalah beberapa spesies anggota genus *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces* dan *Saccharomyces* (Suhardini & Zubaidah, 2016). Bakteri dan khamir saling berkompetisi untuk membentuk asam dan alkohol dari perombakan gula pada cairan teh.

2.2.2 Fermentasi kombucha

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi cairan teh dan gula. Fermentasi kombucha berlangsung dengan bantuan aktivitas bakteri dan khamir. Proses fermentasi teh kombucha melibatkan *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) sehingga menciptakan rasa asam pada teh. Kombucha memiliki khasiat yang sangat berguna bagi tubuh manusia. Beberapa manfaat dari kombucha antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikroflora usus, meningkatkan ketahanan tubuh dan menurunkan tekanan darah (Suhardini & Zubaidah, 2016). Beragam khasiat tersebut muncul dikarenakan adanya kandungan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan. Teh hijau memiliki kandungan senyawa fenolik yang lebih tinggi daripada teh hitam, salah satunya yaitu katekin. Nilai total katekin teh hijau lebih besar dibandingkan teh hitam dan nilai IC₅₀ DPPH teh hijau lebih kecil dibandingkan teh hitam. Semakin

tinggi senyawa fenolik yang terkandung, maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya Rudyanto M et al. (2022). Proses fermentasi oleh bakteri dan khamir akan meningkatkan jumlah fenol di dalam teh sehingga mampu meningkatkan aktivitas antioksidan.

Proses pembuatan teh kombucha sangat mudah dan sederhana sehingga dapat dilakukan dimanapun dan kapanpun. Faktor utama dalam pembuatan teh kombucha hanya 3 bahan yaitu gula, teh, dan SCOBY. Teh yang telah mengandung gula kemudian ditambahkan dengan starter kombucha sebanyak 10% dari volume teh dan satu lembar SCOBY dimasukkan kedalam teh. Kemudian ditutup dengan kain dan disimpan di suhu ruang dan dihindarkan dari suhu panas. Waktu proses fermentasi kombucha yang baik antara berkisar dari 8 sampai 12 hari pada suhu 18 – 20 °C, dan pada suhu yang lebih tinggi proses fermentasi dapat berlangsung lebih singkat. Pada umumnya, di daerah beriklim tinggi (22-26°C) proses fermentasi kombucha berkisar selama 4 sampai 6 hari (Aini, 2022). Lamanya proses fermentasi kombucha dapat mempengaruhi kualitas fisik, kimia, maupun organoleptik kombucha (Nainggolan, 2009). Fermentasi yang terjadi merupakan aktivitas dari mikroorganisme yang terdapat dalam starter kultur kombucha. SCOBY (*Symbiotic culture of bacteria and yeasts*) merupakan kultur campuran yang berisi bakteri dan khamir (*yeast*) (Wistiana dan Zubaidah, 2015).

Bakteri dan khamir yang terdapat dalam kombucha berperan penting mengubah gula dalam teh. Khamir yang terlibat dalam fermentasi kombucha adalah *Saccharomyces cereviceae*, dan bakteri asam asetatnya yaitu *Acetobacter xylinum*. Bakteri dan khamir yang hidup berdampingan dalam satu medium menghasilkan produk fermentasi berupa alkohol, laktat dan asetat. Dimana khamir akan merombak gula menjadi alkohol, dan bakteri asam asetat akan mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat (Hafsari & Farida, 2021). Fermentasi kombucha yang disimpan terlalu lama pada suhu lebih dari 20 °C akan membentuk biofilm karena adanya mikroorganisme di dalamnya (Sa'diyah & Devianti, 2022). Kemampuan mikroba jamur teh untuk membentuk biofilm menjadi masalah besar ketika teh kombucha disimpan dan dikomersialkan. Selain itu pembentukan asam-asam organik pada kombucha menyebabkan kadar asam semakin tinggi, hal tersebut

mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Namun semakin meningkatnya asam asetat yang dihasilkan akan menghasilkan suasana asam pada teh kombucha dan jika melampaui asam bisa menjadi produk cuka. Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil dan sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidan akan menurun (Khaerah & Akbar, 2019).

2.3 PENGHAMBATAN FERMENTASI

2.3.1 Pemanasan

Pemanasan merupakan salah satu faktor penghambat dalam proses fermentasi. Tujuan utama dari proses pemanasan dalam industri makanan dan minuman adalah untuk pengawetan. Selama proses pemanasan, aktivitas mikroba akan berkurang, mencegah adanya pertumbuhan dari mikroba serta mencegah terjadinya reaksi kimia yang tidak diinginkan selama proses penyimpanan. Namun proses pemanasan memungkinkan terjadinya reaksi-reaksi fisik dan kimia yang berdampak negatif pada kualitas produk termasuk misalnya penurunan gizi, perubahan struktur kimia pada kandungannya, hilangnya aroma, serta perubahan rasa dan warna (Qiu et al., 2015). Namun proses pemanasan merupakan proses yang dibutuhkan dalam pengawetan makanan dan minuman. Sehingga untuk meminimalisir dampak proses pemanasan pada kualitas produk dapat dilakukan optimalisasi kondisi proses pemanasan, misalnya penggunaan waktu yang singkat atau dengan perlakuan panas dengan suhu yang lebih tinggi. Mengingat pembentukan asam-asam organik pada proses fermentasi kombucha yang mampu meningkatkan kadar asam dan mempengaruhi aktivitas antioksidan menyebabkan produk tersebut harus melalui proses pemanasan guna menjaga kualitas produk. Perlakuan mengatur suhu yang lebih tinggi dari suhu optimum mampu mempengaruhi pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim dalam proses fermentasi.

Suhu optimum fermentasi kombucha umumnya berkisar antara 22°C hingga 30°C. Jika suhu naik diatas suhu optimum atau suhu turun dibawah rata-rata akan menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme akan berhenti dan sel-sel akan mati (Vitas et al., 2013). Pemanasan pada suhu 60, 65, dan 68 °C selama 1

menit mampu mengontrol pertumbuhan biofilm di kombucha dan mengubah sifat fisiknya Jayabalan et al. (2008). Adapun penelitian *Angka Lempeng Total* (ALT) pada teh kombucha yang mendapatkan perlakuan pemanasan dan tidak. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil nilai ALT teh yang mengalami pemanasan lebih rendah dibandingkan teh yang tidak mengalami pemanasan. Menurut Sadiyah & Puji Lestari (2020), pemanasan dengan suhu 60 hingga 70 °C selama 3 menit dan 5 menit mampu menurunkan total mikroba pada teh kombucha. Pemanasan dengan waktu yang lebih lama yakni 5 menit mampu menghambat atau membunuh bakteri dengan maksimal yang ditunjukkan dengan nilai ALT pada pengenceran ke 10^5 sebesar 9×10^5 sedangkan teh kombucha yang dipanaskan selama 3 menit didapatkan nilai ALT pada pengenceran 10^5 sebesar 16×10^5 .

Pemanasan yang dilakukan hanya mampu membunuh atau menghambat bakteri saja karena khamir (yeast) tidak dapat dibunuh atau dikontrol pertumbuhannya. Meski tidak dapat dibunuh, namun pemanasan dapat melemahkan metabolisme dan structural khamir (Jayabalan et al., 2008). Dalam proses fermentasi khamir akan merombak gula menjadi alkohol dan bakteri asam asetat akan mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat. Jika bakteri asam asetat telah berkurang akibat pemanasan maka produk yang dihasilkan khamir yakni alkohol akan sulit teroksidasi, Maka dari itu perlu dilakukan perlakuan untuk menghambat atau membunuh khamir untuk mendapatkan kualitas teh kombucha yang baik. Penghambatan khamir bisa dilakukan dengan penambahan *Bahan Tambahan Pangan* (BTP).

2.3.2 Penambahan BTP kalium sorbat

Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. BTP pengawet merupakan zat atau senyawa yang mampu mencegah atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri, khamir dan jamur. Menurut Sirait et al. (2019) BTP jenis sorbat mampu mencegah pertumbuhan kapang, khamir dan fungi dalam produk makanan dan minuman. Penggunaan BTP yang tepat sesuai takaran batas aman akan memberikan manfaat teknologi terhadap mutu pangan. Namun, penggunaan BTP yang tidak tepat atau melebihi takaran yang aman dapat

membahayakan kesehatan. Penggunaan BTP pengawet pada produk kombucha ini bertujuan proses penghambatan fermentasi sehingga tidak menghasilkan produk fermentasi berupa asam organik yang berlebih pada teh kombucha.

BTP pengawet terdapat beberapa jenis namun yang sering digunakan adalah benzoate dan sorbat. BTP asam sorbat lebih efektif dalam makanan dan minuman dengan konsentrasi rendah. Asam sorbat lebih efektif terhadap khamir dan jamur dibandingkan bakteri. Asam sorbat dan garamnya, seperti natrium sorbat, kalium sorbat, dan kalsium sorbat, merupakan agen antimikroba yang biasa digunakan sebagai bahan pengawet dalam produk makanan dan minuman untuk mencegah pertumbuhan kapang, khamir, dan fungi. Secara umum garam-garam sorbat lebih disukai dibanding bentuk asamnya karena kelarutannya yang lebih di dalam air, namun bentuk aktifnya adalah asam. Nilai pH optimum untuk aktivitas antimikroba berada di bawah pH 6.5. Semakin rendah pH suatu produk makanan atau minuman, maka akan semakin sedikit kalium sorbat yang dibutuhkan untuk proses pengawetan (Sirait et al., 2019)

Sorbat umumnya digunakan dalam keju, produk susu, produk roti, jus, buah, saus asam, salad, jam, jelly, margarin, minuman ringan, ikan dan produk daging. Selain itu sorbat lebih banyak digunakan pada apel cider karena keberadaan sorbat hanya sedikit mempengaruhi rasa dibandingkan dengan benzoat. Menurut BPOM (2013) asam sorbat dapat digunakan di produk kopi, kopi substitusi, teh, seduhan herbal, minuman biji-bijian dan sereal panas, kecuali coklat. Penggunaan pengawet asam sorbat untuk produk minuman teh siap minum diperbolehkan namun tidak melebihi batas yang ditetapkan yaitu 1000 mg/kg. Penambahan bahan pengawet perlu diperhitungkan karena jika melebihi batas akan menimbulkan dampak yang kurang baik bagi kesehatan.

2.4 UJI ORGANOLEPTIK

Uji organoleptic merupakan suatu uji berdasarkan kesukaan dan keinginan pada suatu produk. Uji organoleptic biasa disebut dengan uji indera atau uji sensori yang merupakan menggunakan indera manusia sebagai alat utama dalam pengukuran daya terimaan produk. Uji ini telah ada sejak manusia mulai menggunakan indera mereka untuk menilai kualitas dan keamanan makanan atau

minuman. Analisis sensorik sangat penting dalam produk makanan, jika rasanya tidak enak, maka nilai gizinya tidak dapat dimanfaatkan karena tidak ada yang mengkonsumsi (Muflihatin & Purnasari, 2019). Pada prinsipnya terdapat 3 jenis uji organoleptik, yaitu uji perbedaan (discriminative test), uji deskripsi (descriptive test) dan uji afektif (affective test). Uji afektif didasarkan pada pengukuran kesukaan (atau penerimaan) atau pengukuran tingkat kesukaan relatif. Pengujian Afektif yang menguji kesukaan dan/atau penerimaan terhadap suatu produk dan membutuhkan jumlah panelis tidak terlatih, salah satu contoh uji afektif yakni uji hedonik.

Uji hedonik merupakan pengujian yang paling banyak digunakan untuk mengukur tingkat kesukaan terhadap produk. Uji ini dikenal juga dengan istilah uji tingkat kesukaan atau uji sensorik. Tingkat kesukaan ini disebut skala hedonik, misalnya sangat suka, suka, agak suka, agak tidak suka, tidak suka, sangat tidak suka dan lain-lain. Skala hedonik dapat direntangkan atau diciutkan menurut rentangan skala yang dikehendaki. Dalam analisis datanya, skala hedonik ditransformasikan ke dalam skala angka menurut tingkat kesukaan (bisa 5, 7 atau 9 tingkat kesukaan). Pada uji ini dilakukan uji hedonic dengan skala 5 yaitu skor 1= sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = cukup suka, 4 = suka, 5 = sangat suka. Total panelis standar dalam satu kali pengujian adalah 6 orang, sedangkan untuk panelis non standar adalah 30 orang (Badan Standarisasi Nasional, 2006). Setiap orang akan menilai dan mengisi form penilaian yang telah disediakan. Jika suatu produk tidak dilakukan uji organoleptik maka produk tersebut belum ada jaminan mutunya, sulit dipercaya konsumen, cita rasa, tekstur, warna dan aroma produk tidak sesuai dengan permintaan konsumen atau tidak sesuai selera.

2.5 UJI TINGKAT KEASAMAN (pH)

Segala sesuatu yang berhubungan dengan air membutuhkan pengukuran pH. pH dapat diartikan sebagai “Power of Hydrogen” dan dari beberapa sumber menyebutkan “Potential of Hydrogen”, namun yang perlu digaris bawahi disini adalah pH merupakan ukuran konsentrasi ion hidrogen pada suatu larutan, cairan atau apapun yang masih mengandung air di dalamnya (Tarigan, 2019). Jangkauan pH berada mulai dari 0-14 dimana titik tengah di nilai 7 dan ini adalah titik netral.

Lebih dari pH 7 dikategorikan basa dan kurang dari pH 7 dikategorikan asam. Nilai pH menunjukkan derajat keasaman suatu larutan atau senyawa. Dimana nilainya semakin kecil menyatakan nilai keasaman yang semakin kuat. Pengukuran nilai pH dapat dengan bantuan alat seperti pH meter dan kertas dengan cara menyentuh larutan secara langsung (Hana Kholid, 2015).

2.6 ANTIOKSIDAN

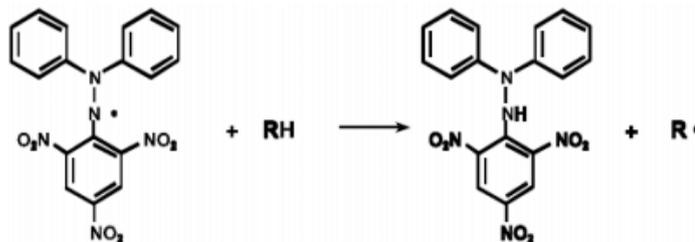
2.6.1 Pengertian antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, menghambat, atau mencegah oksidasi bahan yang dapat teroksidasi dengan membersihkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif. Sebagian besar antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan termasuk dalam golongan senyawa fenolik, polifenol, karotenoid dan vitamin. Kandungan antioksidan banyak terdapat di dalam teh kombucha yang berfungsi sebagai antitumor, antikarsinogenik dan penghambat mutagenik (Shahbaz et al., 2018). Proses fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan sifat antioksidan yang mengacu pada teh, dengan lama fermentasi dan jenis tehnya.

Fermentasi berpengaruh pada penurunan sifat reduktif dengan mengacu pada teh. Polifenol yang ada dalam teh bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan kombucha. Aktivitas yang terdapat dalam teh kombucha memiliki lebih banyak manfaat dibandingkan teh yang tidak difermentasi (Chakravorty et al., 2016). Antioksidan pada teh kombucha bisa meningkat disebabkan karena terdapat fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, semakin lama fermentasi maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Namun juga tidak menutup kemungkinan bahwa antioksidan dalam teh kombucha mampu menurun. Fermentasi kombucha menghasilkan produk asam organik terus menerus menyebabkan suasana asam teh kombucha meningkat. Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil namun dalam kondisi tersebut menyebabkan sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidan akan menurun (Khaerah & Akbar, 2019).

2.6.2 Metode DPPH

Metode DPPH merupakan metode yang mampu mengukur aktivitas antioksidan secara cepat dan sederhana, selain itu metode DPPH merupakan metode yang paling efektif dibandingkan dengan metode lainnya (Plank et al., 2012). Metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan kemampuannya menangkal radikal bebas. DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam sampel. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}) (Ikhrar et al., 2019). Aktivitas antioksidan teh kombucha dapat diukur dengan metode DPPH berdasarkan kemampuan sampel dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH. Kemampuan tersebut akan menunjukkan berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH yang telah ditambahkan dalam sampel. Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH tersebut dapat menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara atom hidrogen yang dilepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin* yang berwarna kuning.



Gambar 2.1 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan

Semakin besar konsentrasi bahan uji, warna kuning yang dihasilkan akan semakin kuat (Molyneux, 2004). DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu dan warnanya akan berubah menjadi kuning saat elektronnya telah berpasangan (Saputri, R., 2019). Pengurangan intensitas warna ungu larutan DPPH dapat dihitung dari berkurangnya absorbansi sampel. Semakin besar konsentrasi sampel maka absorbansi yang terbaca semakin kecil, yang berarti aktivitas bahan uji dalam menangkap radikal DPPH semakin besar. Absorbansi sampel turun karena elektron pada DPPH menjadi berpasangan

dengan electron sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu pekat menjadi kuning bening. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan larutan uji (Molyneux, 2004). Aktivitas antiradikal dapat diketahui melalui perhitungan *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) sedangkan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam % inhibisi yang diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100$$

Nilai tingkat inhibisi meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas. Nilai inhibisi yang diperoleh mampu digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan nilai yang menggambarkan konsentrasi sampel yang mampu menangkap radikal bebas sebesar 50%. Semakin besar nilai IC₅₀, semakin kecil aktivitas antioksidannya dan sebaliknya semakin kecil nilai IC₅₀, semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Menurut (Molyneux, 2004) suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 µg/ml, sedang jika IC₅₀ bernilai 151- 200µg/ml.

2.6.3 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi dan sinar tampak (380-780 nm) dengan menggunakan instrument spektrofotometer. Prinsip spektrofotometri ultraviolet (UV) adalah penyerapan (absorbs) sinar, sedangkan prinsip spektrofotometri cahaya tampak (visibe) adalah penyerapan sinar tampak oleh suatu larutan yang berwarna. Metode ini sangat sering digunakan sebagai penentuan kadar karena sifatnya yang relative cepat, sederhana dan relative murah. Menurut Fajriana & Fajriati (2018), spektrofotometri UV-Vis memiliki ketepatan dan ketelitian yang masih dapat diterima dengan baik dengan nilai presisi sebesar 0,201% dan akurasi sebesar 121,73% dengan RSD sebesar 0,2033%. Pengukuran antioksidan memerlukan metode spektrofotometri sebagai pembacaan absorbansi DPPH yang tersisa setelah bereaksi dengan sampel. Dalam pengukuran antioksidan menggunakan

panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Menurut Rizkayanti et al. (2017), panjang gelombang maksimum akan memberikan serapan paling optimal dari larutan uji dan memberikan kepekaan yang paling besar, sehingga diharapkan dapat diperoleh nilai absorbansi yang optimal pada sampel.