

# BAB I

## TINJAUAN PUSTAKA

### 1.1. Uraian Tumbuhan Brokoli (Gambar I.1 dan I.2)

#### 1.1.1. Klasifikasi tumbuhan

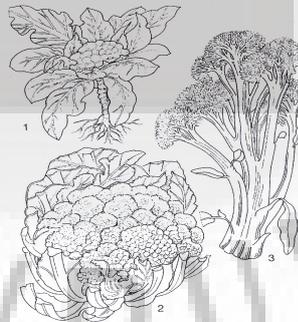
Menurut Cronquist (1981:446-448) dan van der Vossen (1993:111), Brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak kelas	: Dilleniidae
Bangsa	: Capparales
Suku	: Brassicaceae
Marga	: <i>Brassica</i>
Jenis	: <i>Brassica oleracea</i> L.
Kultivar	: Cv. groups Broccoli
Sinonim	: <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> Plenck.
Nama daerah	: Broccoli, sprouting broccoli, Calabrese (Inggris), Chou broccoli (Prancis). Brokoli (Indonesia). Brokoli (Papua New Guinea)

#### 1.1.2. Deskripsi

Tinggi tanaman herba brokoli sekitar 50-80 cm pada tahap vegetatif matang dan 90-150 cm saat tumbuhan berbunga. Sistem akar bercabang banyak, terkumpul pada tanah kedalaman 30 cm. Batang tidak bercabang dengan panjang 20-30 cm dan menebal ke atas. Daun terkumpul (roset) terdiri dari 15-25 daun-

daun yang besar, disekitar “kepala” (perbungaan), hampir duduk (tidak bertangkai) dibungkus oleh lapisan lilin; helai daun abu-abu sampai hijau biru dengan urat daun keputihan; bentuk daun bervariasi dari pendek dan lebar (40-50 cm x 30-40 cm) dengan tepi kriting sampai panjang meruncing (70-80 cm x 20-30 cm) dengan tepi rata. “Kepala” terdiri dari kubah yang dibentuk oleh meristem bunga-bunga yang berproliferasi, putih sampai kuning, pada banyak tangkai perbungaan yang pendek dan berdaging, diameter “kepala” 10-40 cm. Perbungaan tandan (racemus), panjang 40-70 cm, tangkai setiap bunga 1,5-2 cm panjangnya. Bunga tetramer (bagian-bagian bunga 4 helai), biseksual, kelopak tegak, hijau; mahkota seperti spatula, 25 x 10 mm, kuning atau putih; stamen 6, 2 pendek dan 4 panjang. Buah buncung (siliqua), 0,5 x 5-10 cm, berisi 10-30 biji. Biji bulat, coklat, berdiameter 2-4 mm (van der Vossen, 1993: 111-112).



**Gambar I.1** *Brassica oleracea* L. cv. groups Bunga Kol & Broccoli – 1, Habitus (Bunga Kol); 2, “Kepala Bunga” (Bunga Kol); 3, “Kepala Bunga” (Brokoli) (van der Vossen, 1993:112).



**Gambar I.2** *Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli (a.Astawan, 2008:25 dan b.Selby, 2005:43)

### **1.1.3. Sumber penyebaran**

Brokoli berasal dari negara Italia yang mulai terkenal pada zaman Romawi dari Mediterranean Timur. Brokoli dengan “kepala” bunga hijau, ungu atau putih menjadi populer di Eropa Utara pada abad ke-18. Brokoli diperkenalkan ke Amerika Serikat oleh imigran Italia pada awal abad ke-20. Dari Amerika Serikat brokoli telah menyebar ke Eropa Utara, Jepang dan daerah lain dalam 50 tahun terakhir (van der Vossen, 1993: 111).

### **1.1.4. Ekologi**

Kebanyakan brokoli dan bunga kol hanya memproduksi kualitas yang baik apabila ditanam pada suhu rata-rata 15°-20°C dan variasi harian minimal 5°C. Di daerah tropis kondisi tersebut hanya ditemukan pada ketinggian di atas 800 m dpl. Tanah yang digunakan harus subur dengan drainase yang baik, memiliki kapasitas mempertahankan kelembaban yang baik, dan kandungan bahan organik yang tinggi; pH optimum adalah 6,5-7,5 (van der Vossen, 1993:114).

### **1.1.5. Kegunaan bagian-bagian tumbuhan**

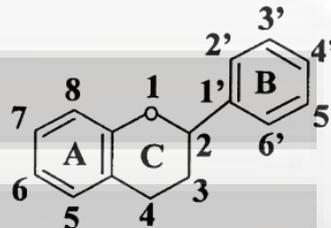
Bunga brokoli biasanya digunakan sebagai sayuran yang mempunyai manfaat untuk mencegah dan menghambat perkembangan sel kanker paru, esofagus, usus besar (kolon), mulut, prostat, payudara (sebagai tambahan/ food therapy) (Wijayakusuma, 2005:24). Bunga brokoli sebagian besar dikonsumsi sebagai sayuran, campuran salad, dan acar (van der Vossen, 1993: 111).

## **1.2. Kandungan Kimia**

Setiap 100 g brokoli segar yang dimakan mengandung rata-rata (88 g air; protein 4 g; lemak 0,3 g; karbohidrat 6 g; serat 1,5 g; Ca 150 mg; K 325 mg;

karoten 800 mg; vitamin C 100 mg). Nilai energi 245 kJ/100 g. Berat 1000 biji adalah 2,5-4 gram (van der Vossen, 1993: 111). Selain itu, dalam brokoli terdapat vitamin (A, C, E, tiamin, riboflavin, nikotinamid), beta-karoten, sianohidroksibutena (CHB), sulforafan, dan iberin yang merangsang pembentukan glutathion. Kandungan zat yang berkhasiat yaitu sulforafan yang dapat mencegah penyakit kanker (Dalimartha, 2000:26).

### 1.3. Flavonoid (Gambar I.3)



Gambar I.3 Struktur Flavonoid ( $C_6-C_3-C_6$ ) (Heim dan Anthony, 2002:573).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, sehingga kemungkinan juga ditemukan pada setiap telaah ekstrak tumbuhan (Markham, 1988:1). Flavonoid banyak dijumpai dalam bentuk aglikon (tanpa terikat gula) dan glikosida (berikatan dengan gula). Aglikon flavonoid merupakan polifenol yang mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yang bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Tetapi jika dibiarkan dalam larutan basa dan terdapat oksigen, akan banyak yang terurai (Markham, 1988:15).

Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau gula, dan bersifat polar, sehingga pada umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti air, etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH),

aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), dan lain-lain. Glikosida merupakan gula terikat pada flavonoid (bentuk yang umum ditemukan) cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan campuran pelarut diatas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988:15).

Pembagian kelompok flavonoid terdiri dari: (Robinson, 1995:196-199)

- a) Antosianin merupakan pigmen warna daun dan bunga (merah sampai biru). Antosianin selalu terdapat sebagai glikosida, dan bersifat larut air (Sirait, 2007: 131).
- b) Flavon dan flavonol merupakan senyawa paling tersebar luas dari semua pigmen tumbuhan kuning, meskipun warna kuning pada jagung biasanya disebabkan oleh karotenoid. Kuersetin adalah salah satu senyawa yang paling umum pada tumbuhan berpembuluh. Isoflavon jarang sekali ditemukan.
- c) Senyawa flavanon dan flavanol hanya sedikit terdapat pada tumbuhan dibandingkan dengan flavonoid lainnya, karena konsentrasinya rendah dan tidak berwarna maka sebagian besar senyawa-senyawa ini diabaikan. Flavanon sering terjadi sebagai aglikon, yang dikenal sebagai hesperidin. Flanol merupakan flavonoid yang jarang dikenal.

#### 1.4. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (donor elektron) atau reduktan. Secara biologis, antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007:78). Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter yang penting untuk memantau kesehatan seseorang. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007:20).

#### 1.5. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang akan mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Senyawa radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Berdasarkan sifat ini, radikal bebas dianggap sama dengan oksidan, tetapi tidak setiap oksidan merupakan radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan senyawa oksidan non-radikal. Reaktivitas radikal bebas merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron. Sebagai dampak kerja radikal bebas tersebut, akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul

yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya (Winarsi, 2007:14-16).

### **1.6. Simplisia**

Simplisia merupakan bahan ilmiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, dan kecuali dikatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 2000:3). Simplisia yang akan digunakan untuk bahan obat harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan (Materia Medika Indonesia) (Depkes RI, 2000:5).

### **1.7. Metode Penapisan Fitokimia**

Penapisan fitokimia perlu dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa kimia tumbuhan yang memiliki aktivitas biologi. Metode yang digunakan untuk penapisan fitokimia yaitu dengan menambahkan pereaksi yang akan menghasilkan nilai positif berupa perubahan warna atau endapan. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap senyawa kimia diantaranya alkaloid, flavonoid, kuinon, saponin, tanin, polifenolat, monoterpena/seskuiterpena dan triterpenoid/steroid. Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen (Harborne, 1987:234). Saponin merupakan glikosida triterpena yang bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa, bersifat larut dalam air, dan menghemolisis darah (Harborne, 1987:151). Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat

bereaksi dengan protein dan makromolekul seperti karbohidrat. Secara kimia terdapat dua jenis tanin, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Harborne, 1987:102-103). Triterpenoid/steroid merupakan senyawa yang mudah menguap dan berbau wangi yang terdapat pada bunga, daun, buah, dan akar (Harborne, 1987:147).

### **1.8. Metode Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak**

Pengujian parameter standar dilakukan untuk memberikan batasan maksimal atau minimal pada parameter-parameter yang akan diuji. Metode parameter standar yang dilakukan untuk simplisia yaitu organoleptis, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, sedangkan untuk ekstrak yaitu organoleptis, bobot jenis, penetapan kadar sari larut dalam air dan penetapan kadar sari larut dalam etanol (Depkes RI, 2000:13-17).

Organoleptis bertujuan untuk pengenalan awal yang sederhana seobyektif mungkin (Depkes RI, 2000:31). Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam simplisia sehingga dapat mencegah pertumbuhan mikroba dan menjaga kualitas simplisia selama waktu penyimpanan (Depkes RI, 2000:14). Penetapan kadar abu total dan kadar abu yang tidak larut dalam asam bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia dan ekstrak (Depkes RI, 2000:17). Penetapan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol bertujuan untuk menentukan jumlah senyawa

aktif yang terekstrasi dalam pelarut dari sejumlah simplisia (Depkes RI, 2000:31). Susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan (Depkes RI, 2000:13). Parameter bobot jenis bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya masa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak kental yang masih dapat dituang (Depkes RI, 2000:13).

### **1.9. Metode Pengeringan**

Pengeringan beku (*freeze dryer*) adalah proses pengeringan yang didahului oleh proses pembekuan. Proses pengeringan beku melibatkan 3 tahap yaitu : a) tahap pembekuan; pada tahap ini bahan didinginkan hingga suhu tertentu dimana seluruh air dalam bahan menjadi beku, b) tahap pengeringan utama; disini air dan pelarut dalam keadaan beku dikeluarkan secara sublimasi, tekanan ruang harus lebih rendah atau mendekati tekanan uap kesetimbangan air dalam bahan beku, dan c) tahap pengeringan sekunder; tahap ini mencakup pengeluaran uap hasil sublimasi atau air terikat yang ada di lapisan kering serta pada tahap ini dimulai segera setelah tahap pengeringan utama berakhir (Earle, 1989 dalam Sharief, 2006: 37).

### **1.10. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cairan penyari

(Depkes RI, 2000:1). Bahan yang diekstraksi merupakan serbuk simplisia yang dibuat dengan peralatan tertentu (Depkes RI, 2000:9).

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000:5).

Cairan pelarut dalam pembuatan ekstrak merupakan pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisah dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung (Depkes RI, 2000:9).

Metode-metode dalam ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, refluks, dan soxhlet. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan (Depkes RI, 2000:11).

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Ekstraksi sinambung merupakan ekstraksi menggunakan

pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus yaitu soxhlet, sehingga terjadi ekstraksi yang *continue* dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000:11).

### 1.11. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi mempunyai dua mekanisme kerja yaitu kromatografi adsorpsi dan kromatografi partisi. Prinsip dasar kromatografi adsorpsi didasarkan pada retensi zat terlarut oleh adsorpsi permukaan. Teknik ini berguna dalam pemisahan senyawa-senyawa nonpolar dan senyawa-senyawa yang sulit menguap. Pada kromatografi cair-padat; suatu substrat padat bertindak sebagai fase diam. Pemisahan tergantung pada kesetimbangan yang terbentuk pada bidang antarmuka di antara butiran-butiran fase diam dan fase cair yang bergerak serta pada kelarutan relatif zat terlarut pada fase bergeraknya. Menurut Tswett semakin tinggi kandungan ikatan rangkap dan gugus hidroksil suatu molekul maka akan lebih kuat untuk terabsorpsi. Prinsip kromatografi partisi cair-cair merupakan suatu pemisahan yang dipengaruhi oleh distribusi sampel antara fase cair diam dan fase cair bergerak dengan membatasi kemampuan pencampuran (Khopkar, 1990:148-155).

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang menggunakan fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*) (Gandjar dan Rohman, 2007:323-324). KLT juga dapat digunakan untuk memeriksa adanya zat pengotor dalam pelarut. Pemisahan KLT berguna untuk bermacam pemisahan seperti antioksidan, formulasi zat warna, dan sebagainya (Khopkar, 1990:164-165).

Kromatografi lapis tipis digunakan pada pemisahan zat secara cepat, dengan menggunakan zat penjerap berupa serbuk halus (fase diam) yang dilapiskan pada lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah plat ditaruh pada bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985:3).

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ . Mekanisme penjerapan yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorpsi. Lapis tipis yang digunakan sebagai penjerap juga dapat dibuat dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodekstrin yang digunakan untuk pemisahan kiral (Gandjar dan Rohman, 2007:353-354).

Bercak pemisahan KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia, fisika, maupun biologi. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi, membuat bercak menjadi lebih jelas. Jika senyawa tidak dapat berfluoresensi maka bahan penjerapnya akan diberi indikator yang dapat berfluoresensi (Gandjar dan Rohman, 2007:362).

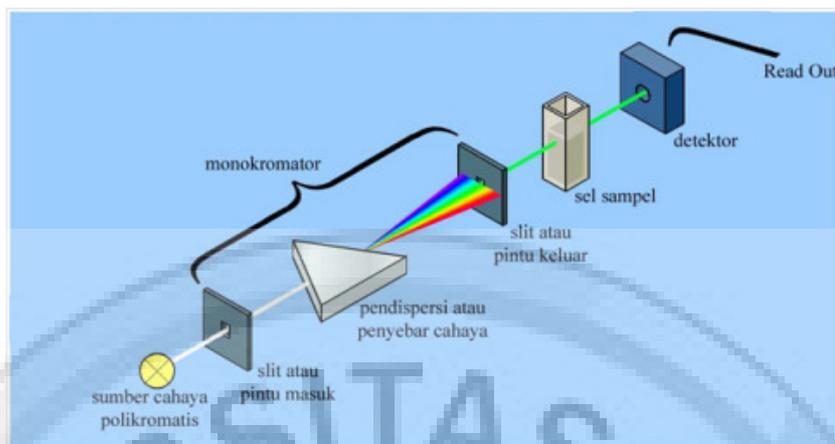
### 1.12. Spektrofotometer UV-Sinar tampak

Spektrum uv-sinar tampak yang merupakan korelasi antara absorbansi (sebagai ordinat) dan panjang gelombang (sebagai absis) bukan merupakan garis spektrum akan tetapi merupakan suatu pita spektrum. Terbentuknya pita spektrum uv-vis tersebut disebabkan oleh terjadinya eksitasi elektronik lebih dari satu macam pada gugus molekul yang sangat kompleks. Penyerapan radiasi ultraviolet dan sinar tampak (visibel) dibatasi oleh sejumlah gugus fungsional yang disebut kromofor yang mengandung elektron valensi dengan tingkat energi eksitasi yang relatif rendah (Gandjar dan Rohman, 2007:226-229).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu sinar dari sumber sinar adalah sinar polikromatis, dilewatkan melalui monokromator, kemudian sinar monokromatis dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel maka akan menghasilkan sinar yang ditransmisikan dan diterima oleh detektor untuk diubah menjadi energi listrik yang kekuatannya dapat diamati oleh alat pembaca (satuan yang dihasilkan adalah absorban atau transmitan). Spektrofotometri yang sering digunakan dalam industri farmasi salah satunya adalah spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang 190-380 nm dan visible (sinar tampak) dengan panjang gelombang 380-780 nm (Departemen Kesehatan RI, 1979:147).

Gambar Instrumen spektrofotometer UV-Sinar tampak dapat dilihat pada

**Gambar I.4**



**Gambar I.4** Instrumen spektrofotometer UV-Sinar tampak (Adam, 2007:60)

Mekanisme Spektrofotometer UV-Sinar tampak yaitu cahaya saat mengenai larutan bening akan mengalami 2 hal yaitu, transmisi yang merupakan nilai dari transmitansi berbanding terbalik dengan absorbansi, dan absorbansi yang merupakan cahaya yang akan diserap jika energi cahaya tersebut sesuai dengan energi yang dibutuhkan untuk mengalami perubahan dalam molekul.

### 1.13. Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

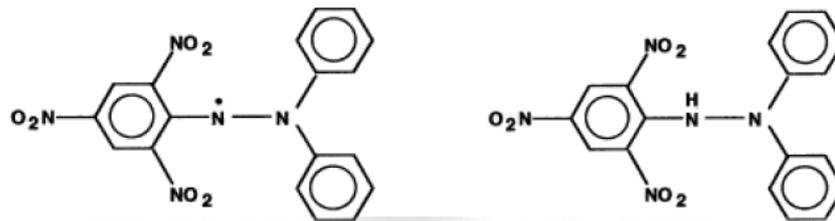
Untuk menguji aktivitas antioksidan digunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), karena metode ini cukup sederhana, mudah dikerjakan, dan tidak membutuhkan banyak waktu. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan untuk menangkap radikal DPPH. Keberadaan antioksidan akan menetralkan radikal DPPH dengan menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Penghilangan warna akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur secara spektrofotometri (Jaya dkk., 2012:87).

Uji antioksidan dengan metode peredaman DPPH dilakukan lebih lanjut dengan mengukur sejauh mana reaksi peredaman terhadap radikal bebas DPPH

dapat berlangsung. Pengukuran dilakukan secara spektrofotometri UV-sinar tampak dengan mengukur serapan dari masing-masing sampel yang sudah direaksikan dengan larutan standar DPPH pada panjang gelombang ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) (Yuhernita dan Juniarti, 2011:49).

Parameter yang biasa digunakan untuk menentukan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan peredaman radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) adalah nilai *Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ).  $IC_{50}$  adalah konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Peredaman radikal DPPH adalah peredaman radikal yang mudah dan akurat dengan kehandalan untuk mengukur kapasitas antioksidan suatu sampel. Peredaman radikal DPPH ini memiliki teknik sederhana, tetapi memiliki kelemahan dalam waktu pengaplikasiannya (Yuhernita dan Juniarti, 2011:49).

DPPH dicampurkan dengan zat yang dapat mendonorkan atom hidrogen. DPPH akan menerima elektron atau radikal hidrogen, kemudian membentuk molekul yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan ungu tua menjadi kuning dan absorbansi pada panjang gelombang 400-600 nm akan hilang. Perubahan ini dapat diukur secara stokhiometri sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat antioksidan (Gurav, 2007:249). Perbedaan antara radikal bebas dengan non-radikal bebas dapat dilihat pada **Gambar I.5**



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

**Gambar I.5** 1) Radikal Bebas. 2) Non-Radikal (Molyneux, 2004:212)

#### 1.14. Analisis Data

Uji T independent sampel (Uji perbandingan rata-rata) digunakan untuk menguji beda rata-rata untuk sampel yang jumlahnya kecil yaitu dibawah 30 (Santoso, 2008:231).