

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki jumlah penduduk terbanyak nomor 4 di dunia. Pada tahun 2021 jumlah penduduk Indonesia diperkirakan berjumlah sekitar 273 juta jiwa (Kementerian Dalam Negeri Republik Indonesia, 2021). Berdasarkan data statistik dari 273 juta jiwa penduduk Indonesia diketahui bahwa sebanyak 5,48 juta penduduk mengonsumsi telur dari total produksi telur yang mencapai 5,52 juta ton pada periode tahun 2021 (BPS RI, 2021).

Telur ayam merupakan jenis telur yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Hal itu karena telur ayam merupakan komoditas yang relatif terjangkau dan salah satu sumber protein hewani, mudah dicerna serta memiliki rasa yang khas. Telur secara fisik terdiri dari tiga komponen utama yaitu kerabang telur 12,3%, putih telur 55,8% dan kuning telur 31,9% (Standelman dan Cotteril, 1995). Kuning telur memiliki bentuk bulat dengan warna kuning sampai oranye, terletak pada inti telur dan bersifat elastis. Warna kuning pada telur disebabkan oleh kandungan pigmen karotenoid.

Dalam kuning telur juga terdapat begitu banyak senyawa bermanfaat bagi kesehatan. Nutrisi telur bertindak sebagai peningkat pertahanan antioksidan terhadap berbagai penyakit (Zaheer, 2017). Menurut Nimalaratne dkk, (2011) pada kuning telur mengandung cukup banyak antioksidan dan dicirikan sebagai karotenoid, vitamin E, zeaxantin, fosvitin dan lain-lain. Antioksidan pada telur dapat bermanfaat menjaga kesehatan mata (Abdel-Aal, 2013), pencegahan atau pengurangan intensitas penyakit kardiovaskular (CVD) dan gangguan neurodegeneratif (Nataraj, 2015).

Antioksidan merupakan suatu molekul yang dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan cara memberi elektron (*donor electron*) atau reduktan sehingga mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan pada konsentrasi yang rendah dapat menghambat bahkan mencegah peristiwa oksidasi substrat dalam reaksi rantai (Halliwell & Whitemann, 2004). Kebutuhan antioksidan dapat diperoleh dari senyawa alami dan sintetis. Telur merupakan antioksidan alami yang dapat dikonsumsi masyarakat karena diperkaya antioksidan.

Pada umumnya masyarakat mengonsumsi telur ayam dengan mengolahnya menjadi telur dadar dan telur rebus. Estiasih dan Sofia (2009) mengatakan bahwa panas yang dihasilkan saat perebusan mempengaruhi senyawa antioksidan. Oleh karena itu, pemanasan pada telur juga akan berpengaruh pada kandungan antioksidan dan nutrisi lainnya yang ada di dalam telur. Antioksidan alami pada umumnya merupakan senyawa yang bersifat sensitif terhadap pemanasan. Nilmalaratne, dkk (2012) mengatakan telur ayam yang direbus atau digoreng akan kehilangan kandungan antioksidan 5-18%. Pemasakan dan penyimpanan mempengaruhi aktivitas antioksidan kuning telur ayam ras coklat yaitu dari $148,9 \pm 4,8 \mu\text{mol TE/g}$ menjadi $61,7 \pm 8,5 \mu\text{mol TE/g}$. Kehilangan kandungan karotenoid telur yang direbus terjadi karena adanya perubahan struktur termasuk isomerisasi dan degradasi (Nilmalaratne dkk., 2015).

Berkurangnya kandungan antioksidan pada telur yang direbus karena proses pemanasan diharapkan dapat ditingkatkan kembali dengan menggunakan tanaman obat yang kaya antioksidan dalam proses perebusannya seperti daun kelor. Daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) merupakan tumbuhan obat yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Tanaman kelor terutama pada daunnya mengandung

antioksidan yang tinggi sehingga diharapkan telur yang direbus bersamaan dengan daun kelor senyawa antioksidan dan lainya pada daun kelor dapat meresap ke dalam isi telur dan meningkatkan nilai gizi serta manfaat.

Daun kelor mengandung flavonoid, antrakuinon, alkaloid, saponin, terpenoid, antosianin, tanin, dan karotenoid (Nweze, 2014). Penambahan daun kelor ke dalam proses perebusan telur selain mepengaruhi kandungan antioksidan dan nutrisinya diharapkan juga membuat telur menjadi suatu produk yang memiliki citarasa yang khas dan kaya manfaat (Sari, 2005), karena diketahui aktivitas antioksidan daun kelor kering yaitu sebesar 81,5%.

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik melakukan penelitian uji aktivitas antioksidan pada kuning telur ayam ras yang direbus dengan penambahan daun kelor dengan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH dipilih karena metode ini akurat, serta sensitif terhadap sampel dalam jumlah yang sedikit dan dapat dijadikan estimasi dalam kemampuannya menangkap radikal bebas (Kumar, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka dapat dirumuskan permasalahannya yaitu bagaimanakah aktivitas antioksidan pada kuning telur ayam ras yang direbus dengan penambahan daun kelor.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kuning telur ayam ras yang direbus dengan penambahan daun kelor.

1.4 Manfaat penelitian

1. Hasil dari penelitian ini dapat menjadi informasi bagi masyarakat bahwa kuning telur ayam yang direbus dengan daun kelor memiliki aktivitas antioksidan yang berkhasiat untuk mencegah penyakit.
2. Hasil dan penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi aktivitas antioksidan pada kuning telur ayam yang melalui proses perebusan.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi dalam bidang kesehatan tentang aktivitas antioksidan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi

2.1.1 Tinjauan Biologi Ayam

Menurut Susilorini dkk., (2009) ayam negeri atau ayam ras dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vetebrata
Kelas	: Aves
Ordo	: Gallifomes
Famili	: Phasianadae
Genus	: Gallus
Species	: <i>Ghaluss domesticus</i>



Sumber: <https://asset.kompas.com>

Gambar 1. Ayam Ras Petelur *Ghalus domesticus*

Ayam ras merupakan ayam hasil persilangan dari beberapa jenis ayam yang memiliki produktivitas tinggi. Sehingga ayam ras memiliki mutu unggul karena sudah mengalami perbaikan mutu genetis. Ayam ras dikenal juga dengan ayam boiler. Ayam ras terbagi menjadi ayam ras petelur dan pedaging. Ayam ras petelur adalah ayam ras yang dapat memproduksi telur yang baik dan efisien dalam penggunaan ransum. Ayam ras mempunyai badan yang relatif kecil, aktif bergerak, mudah terkejut, pertumbuhan cepat, sedikit atau tidak mengerami telurnya, kaki berbulu dan cuping telinga berwarna putih (Pahlepi, 2015).

Kemampuan produksi telur ayam ras sangat cepat. Dalam satu tahun ayam ras dapat memproduksi telur 250-280 butir dengan bobot telur 50-70 g/butir. Ciri-ciri lain dari ayam ras yaitu tingkat reproduksi telur yang tinggi sekitar 15-25 butir telur per periode. Semakin bertambah umur ayam maka akan mempengaruhi kemampuan dalam memproduksi telur. Ayam ras petelur akan mengalami penurunan produktivitas pada usia tua (Suprijatna, 2008).

2.1.2 Tinjauan Kimia Telur Ayam

Pada telur ayam terdapat berbagai macam kandungan senyawa, seperti zat kimia. Komposisi kimia yang ada di dalam telur memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan. Telur kaya akan asam amino, protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral. Lemak pada telur terdiri dari trigliserida (lemak netral), fosfolipida dan kolesterol. Asam lemak utamanya adalah asam oleat, palmitat, linoleat dan stearat. Selain itu telur juga mengandung 10 asam amino esensial dari 18 asam amino esensial yang ada (Kusnadi, 2007).

Tabel 1. Komposisi Kimia Telur Ayam

Komponen Penyusun	Bagian-bagian telur %		
	Putih telur	Kuning telur	Cangkang
Air	87,9	48,7	2
Protein	10,6	16,6	6
Lemak	0,6	32,6	-
Karbohidrat	0,9	1,0	-

Sumber: Tolik, D., 2004.

Telur selain mengandung protein yang tinggi juga mengandung sejumlah vitamin yang penting bagi tubuh seperti vitamin A, E, K dan vitamin-vitamin B termasuk B₁, B₂, B₅, B₆, B₁₂ dan asam folat. Telur juga mengandung sejumlah mineral penting seperti besi, fosfor, magnesium dan seng.

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Telur Ayam

Zat Gizi	Kuning telur	Putih telur	Telur utuh
Energi	-	-	143
Vitamin A (µg/g)	-	-	7,17
Vitamin D (µg/g)	-	-	0,011
Vitamin E (µg/g)	-	-	59,20
Vitamin B1/Thiamine (mg/100g WLE*)	-	-	0,12
Vitamin B2/Riboflavin (mg/100g WLE*)	-	-	0,85
Vitamin B3/Niacin (mg/100g WLE*)	-	-	0,10
Besi/Fe (mg)	39,39	0,45	-
Magnesium/Mg (mg)	11,41	83,25	-

Fospor/P (mg)	48,80	100	-
Seng/Zn (mg)	18,98	1,37	-

Sumber : Tolik, D., 2004.

*WLE : Whole Liquid Egg

2.1.3 Tinjauan Biologi Daun kelor

Klasifikasi tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam) menurut (USDA, 2013)

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Subdivisi : Angeospermae
 Klas : Dicotyledoneae
 Ordo : Brassicales
 Familia : Moringaceae
 Genus : Moringa
 Spesies : *Moringa oleifera* Lam.



Sumber : www.id.wikipedia.org

Gambar 2. Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Pohon kelor memiliki beberapa julukan, diantaranya *The Miracle Tree*, *Tree For Life* dan *Amazing Tree*. Hal ini karena bagian pohon kelor mulai dari daun, buah, biji, bunga, kulit batang, hingga akar memiliki manfaat yang luar biasa.

Tanaman kelor mampu hidup diberbagai jenis tanah, tidak memerlukan perawatan yang intensif, tahan terhadap musim kemarau dan mudah dikembangbiakkan (Tilong, 2012).

2.1.4 Tinjauan Kimia Daun Kelor

Daun kelor sangat kaya akan nutrisi, diantaranya kalsium, besi, protein, vitamin A, vitamin B dan vitamin C. Daun kelor mengandung zat besi lebih tinggi dari sayuran lainnya yaitu sebesar 17,2 mg/100 g (Yaméogo, 2011).

Tabel 3. Perbandingan Beberapa Kandungan Gizi Daun Kelor Segar Dan Kering /100 gram.

Kandungan gizi	Daun segar	Daun kering
Kalori	92,0	205
Protein (g)	6,7	27,1
Lemak (g)	1,7	2,3
Karbohidrat (g)	13,4	38,2
Serat (g)	0,9	19,2
Vitamin A (mg)	6,8	16,3
Vitamin B1 (mg)	0,21	2,64
Vitamin C (mg)	220	17,3
Vitamin E (mg)	-	113,0
Kadar Air (%)	75	4,09

Sumber: Bey (2010).

Berdasarkan penelitian Rizkayanti dkk, (2017) diketahui bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki daya antioksidan sebesar 22,1818 ppm, sedangkan ekstrak air daun kelor sebesar 57,5439 ppm. Tingginya antioksidan pada daun

kelor karena adanya kandungan asam askorbat, flavonoid, fenolik dan karotenoid. Antioksidan di dalam daun kelor mempunyai aktivitas menetralkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan oksidatif pada sebagian besar biomolekul dan menghasilkan proteksi terhadap kerusakan oksidatif secara signifikan (Sreelatha & Padma, 2009).

2.2 Tinjauan Farmakologi Telur

Telur ayam tidak hanya memberikan nutrisi yang sangat baik, tetapi juga mengandung berbagai komponen fungsional, menjadikannya salah satu bahan yang paling populer di industri makanan dan dapat juga sebagai bahan baku fungsional farmasi. Berdasarkan penelitian farmakologi senyawa yang ada dalam putih telur dan kuning telur telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas fungsional. Bagian telur ayam yang dapat dimanfaatkan dan memberikan efek kesehatan pada manusia yaitu seperti senyawa lutein dan zeaxantin yang merupakan kelompok dari karotenoid. Lutein dan zeaxantin memainkan peran penting dalam kesehatan mata, lutein dan zeaxantin penting untuk pencegahan atau pengurangan intensitas penyakit kardiovaskular (CVD), stroke, kanker (Perlman dalam Shin dkk., 2013) dan gangguan neurodegeneratif (Nataraj dkk., 2015).

2.3 Tinjauan Farmasetika

Di dalam bidang farmasi kuning telur dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi. Kuning telur mengandung lesitin dan lesitoprotein yang bersifat *surface active* sehingga bisa berperan sebagai emulsifier yang memiliki kemampuan mengikat minyak (lemak) dalam air (m/a) (Rusalim dkk., 2017). FDA menyatakan bahwa lecithin yang diperoleh dari kuning telur dianggap aman

untuk digunakan dalam formulasi sediaan farmasi. Perlu diketahui bahwa lecithin tidak beracun karena dapat dimetabolisme sepenuhnya dan tidak seperti bahan pengemulsi sintetik lainnya.

2.4 Tinjauan Umum

2.4.1 Kuning telur Ayam

Kuning telur adalah tempat terkandungnya kehidupan embrio pada sel telur sehingga kuning telur diketahui mengandung nilai gizi tinggi. Pada kuning telur terdapat dua lapisan yaitu lapisan putih dari kuning telur dan lapisan kuning pada kuning telur. Kuning telur dibungkus oleh suatu membran yaitu membran vitalein. Membran vitalein terbuat dari protein yang disebut keratin. Berat kuning telur mencangkup sepertiga berat telur utuh. Kuning telur mengandung sejumlah lipid dan sebagian dari lipid ini terdapat dalam bentuk terikat sebagai lipoprotein.

Pada kuning telur terdapat beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Adapun senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan pada kuning telur yaitu:

a. Fosvitin

Kemampuan antioksidan senyawa fosvitin dari kuning telur dipengaruhi oleh komposisi serin (fosfoserin) yang mampu mengikat 95% logam besi kuat pada fosvitin. Kemampuan mengikat logam inilah yang membuat fosvitin sebagai antioksidan potensial terutama terhadap kerusakan oksidatif yang diinduksi logam. Fosvitin juga terbukti efektif melawan peroksida lipid yang diinduksi UV karena kelebihan zat besi (Ishikawa dkk., 2005).

b. Phospolipid

Hidroksi amina pada rantai samping kolin dan etinolamina menunjukkan penghambatan kuat peroksida lipid, sehingga menunjukkan peran asam amino rantai samping dengan gugus hidroksil dalam aktivitas antioksidasi (Saito dan Ishihara, 1997).

c. Karotenoid

Karotenoid adalah senyawa larut lemak yang bertanggung jawab atas warna kuning sampai orange pada telur. Karotenoid pada telur lebih baik dari pada tumbuhan karena kelarutan lemak pada kuning telur yang menjadikan telur sebagai pembawa bioaktif yang penting. Kandungan karotenoid telur sangat bervariasi tergantung komposisi pakan ayam sehingga kandungan karotenoid berbeda pada setiap jenis telur ayam (Zaheer, 2017).

2.4.2 Perebusan Telur

Telur biasanya dikonsumsi dengan berbagai cara pengolahan seperti direbus atau digoreng. Proses perebusan telur umumnya dilakukan selama 4-15 menit dengan suhu rata-rata 90°C. Lama waktu perebusan telur akan mempengaruhi tekstur dari telur. Jika telur direbus selama 4-7 menit akan membuat telur bertekstur lembut, 7-10 menit membuat telur bertekstur keras dan waktu 10-15 menit akan membuat telur matang sempurna dan memiliki tekstur lebih keras (Miranda dkk., 2005).

Telur yang direbus akan membuat putih dan kuning telurnya menjadi padat atau terdenaturasi dan warna kuning telurnya akan sedikit memudar. Denaturasi merupakan keadaan protein terurai menjadi struktur primernya. Proses denaturasi

albumen telur akan semakin meningkat seiring pertambahan suhu yang berada pada kisaran 56-90°C (Akkouche dkk., 2012).

2.4.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan cara memberi elektron (*donor electron*) atau reduktan sehingga mencegah terbentuknya radikal bebas. Antioksidan pada konsentrasi rendah atau dalam jumlah tertentu dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi substrat dalam reaksi rantai (Sunardi, 2007). Antioksidan bekerja dengan mendonorkan suatu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihamabat (Winarti dalam Fahrina, A., 2018). Antioksidan dapat melindungi kerusakan sel akibat dari reaksi radikal bebas di dalam tubuh. Oleh karena itu antioksidan di dalam tubuh dapat mencegah timbulnya berbagai penyakit seperti karsinogenik, kardiovaskular dan penuaan (Rohman & Riyanto, 2005).

2.4.3.1 Pengelompokkan Antioksidan

Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya antioksidan dibedakan 3 kelompok (Sayuti & Yenrina., 2015):

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer bekerja dengan memutus rantai reaksi radikal bebas (*chain-breaking antioxidant*) dengan mendonorkan atom Hidrogen secara cepat sebelum radikal bebas bereaksi pada suatu lipid dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

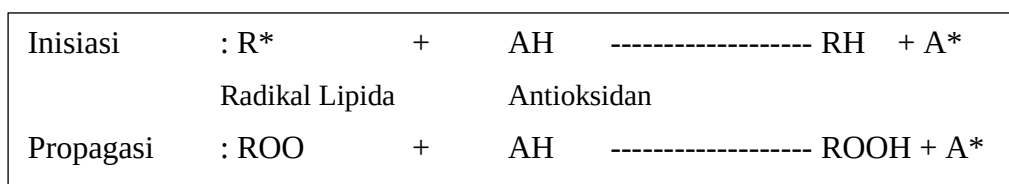
b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder ini bekerja dengan menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas. Secara umum antioksidan sekunder bekerja dengan menonaktifkan logam yang berperan sebagai pro-oksidan dan memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya radikal bebas tidak berikatan dengan komponen seluler.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier bekerja dengan memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas. Contohnya yaitu beberapa enzim DNA *repair* dan enzim metion, serta sulfida reduktase.

Penambahan antioksidan (AH) primer dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (Gambar 3). Tahap inisiasi disebut tahap permulaan sedangkan tahap propagasi disebut tahap perkembangan reaksi.



Gambar 3. Reaksi Penghambatan Antioksida Primer Terhadap Radikal Bebas.

Radikal-radikal antioksidan (A*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipid lain membentuk radikal lipid (Gordon, 1990). Hamilton (1983) mengatakan bahwa radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal.

2.4.3.2 Sumber-sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan atau sintetik (Isnindar dkk., 2011):

1. Antioksidan alami

Senyawa-senyawa antioksidan alami merupakan senyawa hasil ekstraksi bahan alami seperti dari tumbuhan dan hewan. Beberapa senyawa antioksidan alami seperti vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavanoid, antosianidin, asam lipoat, bilirubin, dan lain-lain (Winarsi, 2007).

a. Vitamin C

Vitamin C memiliki banyak fungsi diantaranya sebagai antioksidan, peroksida, pengikat logam, pereduksi dan juga dapat menangkap oksigen.

b. Polifenol

Polifenol merupakan mikronutrien yang memiliki efek antioksidan yang termasuk didalamnya senyawa flavonoid dan senyawa antosianin.

c. Vitamin E

Vitamin E atau tokoferol dapat mencegah lipid peroksida dari asam lemak tak jenuh dalam membran sel dan membantu oksidasi vitamin A. Vitamin E juga dapat memperlambat penuaan pada arteri dan melindungi tubuh dari kerusakan sel-sel yang dapat menyebabkan berbagai penyakit.

d. Karotenoid

Karotenoid dapat larut dalam lemak dan dikenal dengan sebutan β karoten. β karoten merupakan Pro vitamin A yang dapat mengurangi radikal bebas pada sel tubuh dan melindungi dari kerusakan oksidatif. β karoten biasanya

terdapat di dalam tumbuhan hijau hingga kuning jingga. β karoten dalam bentuk karotenoid juga ditemukan dalam kuning telur ayam. Karotenoid dalam telur ayam dipengaruhi oleh konsumsi pakan ayam.

2. Antioksidan buatan/sintetik

Antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan profil galat. Namun, toksisitas dan efek samping dari antioksidan sintesis ini dapat membahayakan jika dikonsumsi dalam waktu lama (Andre dkk., 2010), karena dapat merusak fungsi hati, mukosa usus, paru-paru dan keracunan.

2.4.3.3 Fungsi dan manfaat antioksidan

Fungsi utama antioksidan yaitu sebagai senyawa yang dapat memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil kerusakan senyawa dalam makanan, meningkatkan stabilitas minyak dalam makanan, memperpanjang waktu pemakaian dalam industri makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dalam makanan dan nutrisi (Sunardi, 2007). Antioksidan pada akhirnya akan berfungsi sebagai penetralisir atau peredam dampak negatif dari radikal bebas.

Agar radikal bebas tidak berdampak buruk pada tubuh maka otomatis tubuh memerlukan zat antioksidan. Oleh karena itu, dalam bidang kesehatan antioksidan bermanfaat mencegah penyakit tumor, kanker, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, gangguan sistem imun dan lain-lain (Setiati, 2003).

2.4.4 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul, atom atau gugus yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya sehingga sangat

reaktif. Radikal akan selalu mencari pasang elektron untuk menjadi stabil, dalam konsentrasi yang tinggi radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif dapat terjadi akibat menurunnya jumlah oksigen dan nutrisi, sehingga menimbulkan proses iskemik dan kerusakan mikrovaskular. Hal ini juga dapat memicu terjadinya kerusakan jaringan karena produksi radikal bebas yang berlebih dari hasil metabolisme lemak dan protein yang tersimpan di dalam tubuh karena kurangnya asupan antioksidan dari luar tubuh (Parwata, 2016).

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam (endogen) dan luar (eksogen). Radikal bebas dari dalam terbentuk karena respon biokimia di dalam tubuh seperti oksidasi makanan. Radikal bebas endogen diproduksi di mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma dan inti sel. Sedangkan radikal bebas eksogen terbentuk dari luar seperti polutan udara, radiasi, zat-zat kimia karsinogenik, asap rokok, bakteri, virus dan efek samping obat (Maharani, 2022).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi yaitu proses penarikan senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Kelarutan zat dalam pelarut bergantung pada kepolarannya. Zat yang bersifat polar hanya larut dalam pelarut yang bersifat polar, begitupun sebaliknya. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Departemen Kesehatan RI, 1987).

Metode ekstraksi pelarut dapat dilakukan dengan cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin terbagi menjadi maserasi dan perlokasi, sedangkan ekstraksi

cara panas terbagi menjadi refluks, sokhletasi, digesti, infusa dan dekokta (Depertemen Kesehatan RI, 2000).

1. Maserasi

Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam suatu pelarut pada waktu tertentu dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Maserasi ini bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia yang tahan panas maupun tidak tahan panas.

2. Perlokasi

Metode ekstraksi dilakukan dengan cara melewatkan pelarut secara lambat dalam suatu alat perlokator pada suhu kamar. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk sampel, kemudian cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampel mencapai keadaan jenuh.

3. Refluks

Metode ekstraksi ini digunakan jika menggunakan pelarut yang volatil. Prinsip kerja metode refluks yaitu penarikan kandungan kimia dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersamaan dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cair yang akan turun kembali menuju labu alas bulat sehingga pelarut akan tetap ada selama proses ekstraksi berlangsung.

4. Sokletasi

Metode sokletasi merupakan proses penarikan komponen kimia dengan cara penyarian berulang-ulang dengan pelarut tertentu sehingga komponen yang

diperlukan dapat terisolasi. Pada metode ini menggunakan pelarut yang selalu baru dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut yang konstan.

5. Digesti

Metode ini merupakan maserasi kinetik pada suhu diatas suhu kamar yaitu diantara 40-50°C. Metode ini dipilih jika sampel yang digunakan tidak terekstraksi dengan baik pada suhu kamar.

6. Infusa

Metode infusa merupakan metode yang menggunakan sediaan cair infusa. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

7. Dekokta

Metode ini memiliki proses yang hampir sama dengan metode infusa tetapi metode dekokta waktu pemanasan yang lebih lama yaitu 30 menit pada suhu 90°C. Metode ini dilakukan untuk simplisia yang tidak dapat terekstrak dengan baik.

2.6 Metode Pengujian Antioksidan

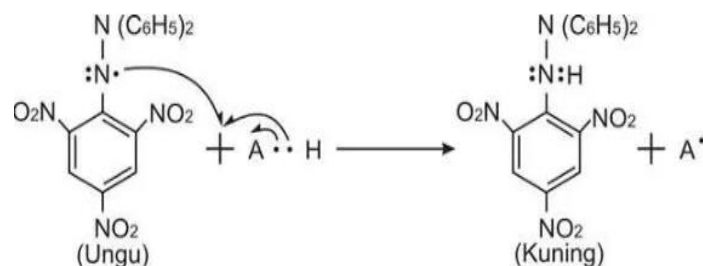
Metode dalam pengujian antioksidan sangat beragam, tetapi masih menggunakan prinsip yang sama. Metode tersebut terbagi menjadi beberapa macam yaitu:

1. Metode Penangkapan Radikal bebas DPPH

Senyawa DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan berwarna ungu. Pengujian dengan metode DPPH berfungsi mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer H* dan juga

mengukur aktivitas penghambat radikal bebas. Kelarutan DPPH akan tereduksi sehingga akan menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Molyneuk, 2004).

Senyawa DPPH digunakan karena kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan dapat diukur berdasarkan kemampuan transfer elektron yang dilakukan oleh antioksidan. Senyawa DPPH yang berwarna ungu pekat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang diantara 515-520 nm kemudian setelah mengalami reduksi maka senyawa DPPH akan berubah menjadi senyawa difenil pikrilhidrazin yang warnanya berangsur-angsur memudar mejadi kuning dan nilai serapannya sebanding dengan jumlah elektron yang diterima.



Gambar 4. Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH (Mailandari, 2012).

Prinsip pengujiannya adalah dengan mereaksikan senyawa antioksidan dengan senyawa radikal bebas. Mekanisme pengujian senyawa ini adalah melihat senyawa radikal yang dapat direduksi oleh sampel (Mailandari, 2012).

2. Metode Ferric Reducing Antioksida Power (FRAP)

Dalam pengujian metode FRAP senyawa antioksidan akan direaksikan dengan senyawa Fe (III), sehingga terjadi reduksi antara ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Pengujian aktivitas antioksida dengan metode FRAP berdasarkan reduksi analog

ferroin. Kompleks Fe^{3+} dari *tripyridyl triazin Fe* (TPTZ) $^{3+}$ akan berubah menjadi Kompleks Fe^{2+} .

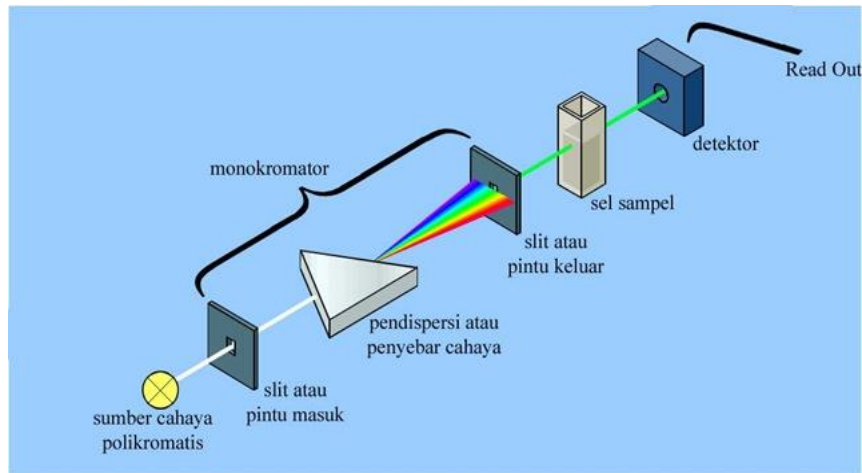
3. Metode Asam Tiobarbiturat (TBA)

Metode ini berdasarkan adanya pembentukan malonaldehid dan asam lemak bebas tidak jenuh dengan ikatan rangkap dua minimal berjumlah tiga. Asam tiobarbiturat akan bereaksi dengan malonaldehid membentuk kromogen yang berwarna merah dan dapat di ukur dengan panjang gelombang maksimum 532 nm.

2.7 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan pengukuran suatu interaksi antara elektronmagnetis dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis yaitu interaksi yang terjadi antara energi yang berupa sinar monokromatis dari sumber sinar dengan materi yang berupa molekul. Besarnya energi yang diserap sehingga menyebabkan elektron tereksitasi dari *ground state* ke kondisi energi yang lebih tinggi. Pengujian analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan larutan blanko sebagai kontrol yang berfungsi sebagai pemblank senyawa yang tidak perlu dianalisis.

Pada spektrum elektromagnetik diperlihatkan deretan sinar mulai dari panjang gelombang yang paling pendek (sinar gamma) sampai panjang gelombang paling panjang (gelombang radio). Dalam analisis secara spektrofotometri terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, yaitu daerah UV (200-400 nm), daerah visible (400-800 nm) daerah inframerah (800–3000 nm).



Gambar 5. Seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis (Dachriyanus, 2013)

Bagian-bagian alat spektrofotometri UV-Vis antara lain :

1. Sumber cahaya

- a. Lampu tungsten (*wolfram*): Digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak. Panjang gelombang antara 350-2200 nm. Spektrum radiasi garis lengkung dan memiliki waktu pakai selama 1000 jam.
- b. Lampu Deuterium: Digunakan untuk mengukur sampel pada daerah UV, memiliki panjang gelombang 190-380 nm. Spektrum energi rasiasi lurus dan waktu pemakaiannya selama 500 jam.

2. Monokromator

Berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang dengan cara mengubah sumber cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Jenis monokromator yang banyak digunakan yaitu lensa prisma dan filter optik.

3. Kuvet

Kuvet merupakan wadah sampel spektrofotometer yang akan dianalisis. Kuvet terbuat dari kursa atau gelas dengan bentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm, tidak boleh berwarna, tidak rapuh, tidak ikut bereaksi dengan sampel.

4. Detektor

Berfungsi sebagai penangkap cahaya yang diteruskan oleh sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Ada 2 jenis detektor yaitu *phototube* dan *Photomultiplier* dengan jangkauan panjang gelombang yang berbeda.

5. Alat baca (*Read Out*)

Merupakan sistem baca yang memperagakan besarnya isyarat listrik yang dinyatakan dalam bentuk %Transmitan maupun absorbansi (Suarsa, 2015)

Mekanisme kerja spektrofotometri UV-Vis :

1. Sinar dari sumber radiasi diteruskan menuju monokromator
2. Cahaya dari monokromator diarahkan terpisah melalui blangko dan sampel dengan sebuah cermin berotasi
3. Kedua cahaya lalu bergantian mengubah arah karena pemantulan dari cermin yang berotasi secara kontinyu
4. Detektor menerima cahaya dari blangko dan sampel secara bergantian dan berulang-ulang. Sinyal listrik dari detektor diproses, lalu diubah menjadi digital dan dibandingkan antara sampel dan blangko
5. Perhitungan dilakukan dengan komputer yang sudah terprogram.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan selama $\pm$ 6 bulan di laboratorium penelitian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah kompor, wajan, spektrofotometri UV-Vis, timbangan digital, *beaker glass*, pipet ukur, pipet gondok, tabung reaksi, pipet tetes, plat tetes, labu ukur, kertas saring, spatel, corong kaca, aluminium foil, lemari pendingin.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini kuning telur ayam ras, simplisia daun kelor, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), vitamin C, metanol p.a, aquadest, kloroform, H_2SO_4 2 N, pereaksi Mayer, norit, asam asetat anhidrat, serbuk Mg, HCl pekat, dan FeCl_3 .

3.3 Prosedur penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan terdiri dari daun kelor dari Lubuk Buaya, Sumatera Barat dan telur ayam ras yang memiliki berat relatif sama dan seragam. Sampel telur didapatkan dari peternakan di wilayah Pesisir Selatan, Sumatera Barat.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel daun kelor dilakukan di herbarium ANDA Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang.

3.3.3 Perebusan dan Preparasi Bahan Baku

Daun kelor seberat 3 kg dilakukan pencucian kemudian dikeringanginkan di bawah sinar matahari selama $\pm$ 14 hari, kemudian diserbukkan. Daun kelor kemudian digunakan sebagai bahan tambahan dalam perebusan telur ayam sebagai berikut:

F₀: Telur direbus tanpa penambahan daun kelor. Telur direbus sebanyak 3 butir dengan air suling 1,5 liter selama 15 menit.

F_x: Telur direbus dengan penambahan daun kelor dengan ketentuan sebagai berikut:

- F1: Perebusan A dengan penambahan daun kelor seberat 50 gram. 3 butir telur direbus dengan air suling 1,5 L selama 15 menit.
- F2: Perebusan B dengan penambahan daun kelor seberat 100 gram. 3 butir telur direbus dengan air 1,5 L selama 15 menit.
- F3: Perebusan C dengan penambahan daun kelor seberat 200 gram. 3 butir telur direbus dengan air 1,5 L selama 15 menit.

Setelah telur matang tunggu 5 menit sampai dingin. Kupas dan pisahkan kuning telur dari putih telurnya. Kuning telur di homegenkan dalam lumpang.

3.4 Evaluasi Sampel

3.4.1 Evaluasi Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis bertujuan untuk menentukan karakteristik sampel dengan mengidentifikasi melalui panca indera seperti bentuk, warna, bau dan rasa.

3.4.2 Skrining Fitokimia Kuning Telur Rebus

Skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan kelompok senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel. Skrining fitokimia yang dilakukan dengan

menggunakan metode Simes dkk, untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, flavanoid, dan saponin. Sampel kuning telur ditimbang 2 gram kemudian masukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan kloroform dan air masing-masing 5 mL (1:1). Selanjutnya campuran dikocok kuat dan dibiarkan sejenak hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan air (atas) dan kloroform (bawah).

3.4.2.1 Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL lapisan kloroform ditambah 1 mL kloroform amoniak 0,05 N dan beberapa tetes asam sulfat 2 N lalu dilakukan pengujian dengan pereksi Mayer. Hasil positif ditunjukkan bila terbentuk endapan putih.

3.4.2.2 Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 1-2 tetes lapisan kloroform disaring dengan norit aktif. Hasil saringan ditetaskan 2-3 tetes pada plat tetes. Tunggu hingga kering lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dengan H_2SO_4 2 N, warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna biru menunjukkan adanya senyawa steroid.

3.4.2.3 Uji Flavonoid

Sejumlah lapisan air diambil ditambahkan logam Mg dan 1-2 tetes HCl 2 N. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada amil alkohol menandakan adanya senyawa flavonoid.

3.4.2.4 Uji Fenolat

Sebanyak 1-2 tetes lapisan air ditetaskan pada plat tetes lalu ditambah 1-2 tetes pereaksi $FeCl_3$, terbentuk warna biru menunjukkan adanya fenolat.

3.4.2.5 Uji Saponin

Saponin dideteksi dengan adanya busa di dalam air. Sejumlah lapisan air diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilakukan pengocokan. Jika terbentuk busa yang permanen selama 10 menit dan tidak hilang pada penambahan tetes HCl 2 N dapat menunjukkan adanya saponin.

3.5 Pembuatan Larutan

3.5.1 Pembuatan Larutan Induk DPPH 35 ppm (Molyneux, 2004)

10 mg DPPH dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambah metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 100 ppm. kemudian dipipet 35 mL larutan DPPH dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 35 ppm.

3.5.1 Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

10 mg vitamin C dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambah metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 100 ppm.

3.5.2 Pembuatan Larutan Induk Kuning Telur

Sebanyak 25 mg dari sampel kuning telur F0 dilarutkan dengan 25 mL metanol disaring dengan kertas saring lalu masukan ke dalam labu ukur 25 mL kemudian dicukupkan sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk 1000 ppm. Perlakuan yang sama dilakukan untuk membuat larutan induk sampel F1, F2, dan F3.

3.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Menggunakan Metode DPPH

3.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Dipipet 4 mL larutan DPPH 35 ppm yang baru dibuat kemudian dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan 2 mL campuran metanol dan aquades (1:1)

kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu 37°C ditempat gelap. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 400-800 nm.

3.6.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Dari larutan induk vitamin C 100 ppm dipipet (0,2;0,4;0,6;0,8;1) mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL ditambahkan campuran metanol dan aquadest (1:1) sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 2,4,6,8,10 ppm. Kemudian dipipet 2 mL lalu masukan ke dalam vial, ditambahkan 4 mL larutan DPPH 35 ppm. Diamkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Tentukan aktivitas antioksidan menggunakan nilai %Inhibisi dan nilai IC₅₀.

3.6.3 Penentuan Aktivitas Antioksidan Kuning Telur Ayam Ras

Dari larutan induk 1000 ppm pada sampel F0 dipipet (1; 1,5; 2; 2,5; 3) mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi (100;150;200;250;300) ppm. Pada larutan induk 1000 ppm sampel F1, F2, dan F3 dipipet (0,5; 1; 1,5; 2; 2,5) mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi (50; 100; 150; 200; 250) ppm.

Dipipet masing-masing konsentrasi larutan sampel F0, F1, F2, dan F3 sebanyak 2 mL lalu dimasukkan ke dalam vial secara terpisah dan ditambahkan 4 mL larutan DPPH 35 ppm. Diamkan selama 30 menit di tempat gelap (terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning). Kemudian diukur serapan larutan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang

400-800 nm. Tentukan aktivitas antioksidan menggunakan %Inhibisi dan nilai IC₅₀.

3.7 Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH dengan perhitungan nilai % inhibisi serapan DPPH dengan rumus:

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

Keterangan :

Absorban kontrol = Serapan larutan radikal DPPH 35 ppm.

Absorban sampel = Serapan larutan sampel ditambah larutan DPPH 35 ppm.

3.8 Penetapan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ ditentukan menggunakan persamaan regresi linear. IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. untuk menentukan IC₅₀ diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sampel antioksidan sebagai sumbu x.

$$y = a + bx$$