

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman Gelinggang

Tanaman gelinggang atau sering disebut ketepang cina merupakan tanaman yang berasal dari daerah tropik Amerika dan biasanya hidup pada dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.400 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan gelinggang termasuk tumbuhan dikotil yang mempunyai sistem perakaran tunggang, yaitu memperlihatkan akar yang bercabang-cabang menjadi akar yang lebih kecil dan berbentuk kerucut panjang yang terus tumbuh lurus ke arah bawah (Gabriela, 2013).

Gelinggang merupakan tanaman jenis perdu yang besar dan banyak tumbuh secara liar di tempat-tempat yang lembab, disebabkan karena kandungan tanaman tersebut mengandung mineral yang sesuai untuk pertumbuhannya. Akibat mudahnya pertumbuhan tanaman gelinggang menyebabkan tanaman hidup secara liar, sebab ketepeng cina dapat tumbuh tanpa pembudidayaan serta sangat jarang dimanfaatkan oleh masyarakat karena kurangnya pemahaman tentang khasiat dari gelinggang. Secara empiris, daun ketepeng cina bermanfaat sebagai obat cacung, sariawan, sembelit, panu, kurap, kudis dan gatal-gatal (Dalimartha, 2000).

Jumlah tanaman gelinggang masih sekitar 600 spesies, beberapa tersebar luas terutama dinegara-negara tropis seperti India (sugita, 2014). Di Indonesia gelinggang mempunyai sebutan yang berbeda-beda, seperti suku Jawa Barat (Ketepang kebo), suku Banjar (Gelinggang), suku Sunda (Ketepang badak), suku Madura (Acon-aconan), suku Ternate (Kupang-kupang), suku Tidore (Tabankun), suku Sumatra (daun kupang, daun kurapan dan daun gelinggang gajah) (Hujjatusnaini, 2006).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Tanaman gelinggang (*Senna alata*) secara taksonomi mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Fabales
 Familiy : Fabaceae
 Genus : *Senna*
 Spesies : *Senna alata* (L). Roxb.
 Sinonim : *Cassia alata*. L
Herpetica alata (L.) Raf

2.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman Gelinggang atau yang lebih dikenal dengan Ketepang Cina (*Senna alata* (L). Roxb) merupakan tanaman tropik Amerika, dan termasuk tanaman dikotil, biasanya tumbuh di dataran rendah sampai dataran tinggi, dengan ketinggian 1400 meter seperti pegunungan. Ketepang banyak tumbuh liar ditempat-tempat lembap dan juga sering dipelihara sebagai perindang halaman rumah atau gedung. Tanaman gelinggang ini jika dilihat dari batangnya merupakan tumbuhan berkayu dan memiliki ukuran tinggi batang \pm 3 meter, dan berbentuk bulat (Abdul latief, 2012).

a. Daun

Tanaman Gelinggang jika dilihat dari daunnya merupakan daun majemuk menyirip genap dan berpasangan-pasangan sebanyak 5-12 baris, berbentuk jorong sampai bundar telur, berukuran besar, letak berhadapan (Abdul latief, 2012).

b. Bunga

Bunga Gelinggang berupa bunga majemuk, memiliki tangkai yang panjang dan tersusun dalam tandan, berdiri tegak dan terletak diujung-ujung cabang serta memiliki mahkota bunga yang berwarna kuning

terang dan ujung kuncup pada tandan berwarna coklat muda, tandan bunga tidak bercabang serta tangkai bunganya berukuran 10-20cm (Abdul latief, 2012).

c. Buah

Buah gelinggang berwarna hitam, berbentuk polong-polongan yang gepeng berbentuk panjang persegi empat dan memiliki ukuran dengan panjang ± 18 cm dan lebar $\pm 2,5$ cm serta mempunyai sayap pada kedua sisinya dengan ukuran panjang 10-2 mm dan lebar 12-15 mm. Tanda buah gelinggang masak yaitu kedua sisinya akan membuka atau pecah serta biji yang terdapat didalam bunga gelinggang akan terlempar keluar. Biji gelinggang berbentuk segitiga lancip dan pipih yang memiliki jumlah 50-70 butir pada setiap polong atau setiap buah gelinggang (Abdul latief, 2012).

d. Batang

Batang gelinggang memiliki ukuran dengan tinggi ± 3 meter, bentuk batang bulat dan mempunyai sistem percabangan simpodial (Syamsuhidayat, *et al.*, 1991).

e. Akar

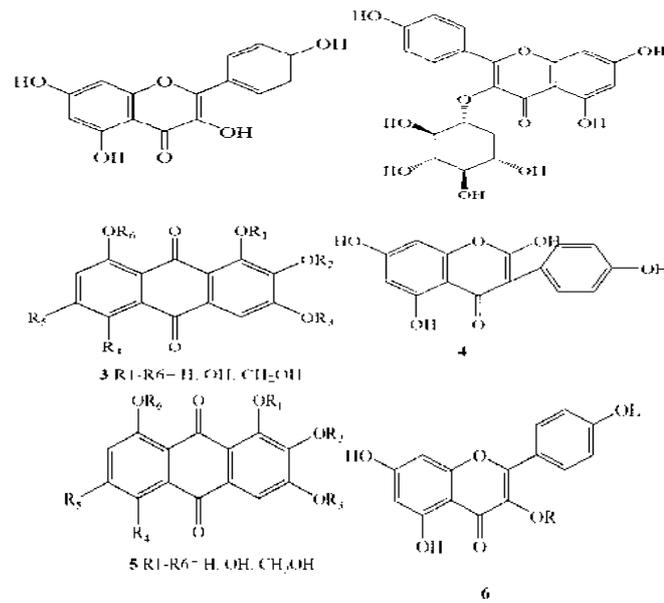
Sistem perakaran pada tanaman gelinggang yaitu perakaran tunggang, yang akar pokoknya bercabang-cabang sehingga menjadi anak akar serta memiliki bentuk kerucut panjang teru tumbuh lurus ke arah bawah. Adapun perakaran tunggang ini untuk memperluas pada bidang penyerapan dan memperkuat tegaknya batang (Syamsuhidayat, *et al.*, 1991).



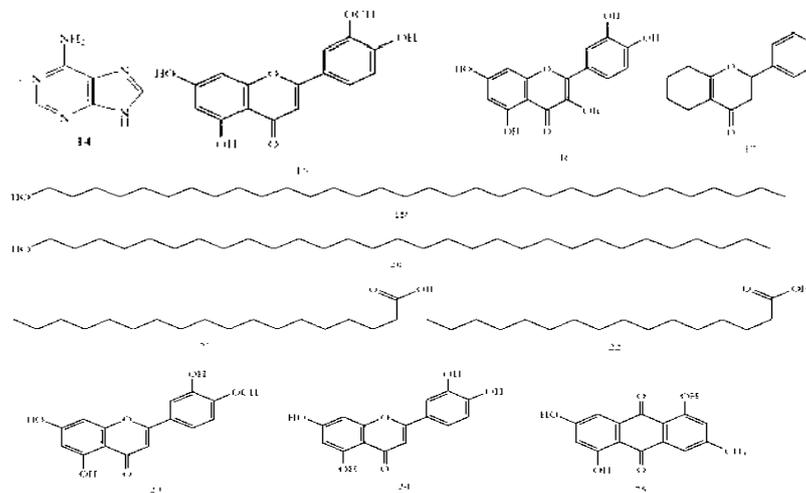
Gambar 2.1 Bagian tanaman gelinggang bunga, daun, buah dan batang (Dokumentasi pribadi 2021).

2.1.3 Kandungan Kimia

Pada daun gelinggang mengandung metabolit sekunder yaitu flavonol, flavon, flavonoid serta alkaloid. Adapun jenis flavonol (kaemperol), (kaemperol-3-O- β -D-glucopyranoside) senyawa flavon yang terdiri dari (3,5,7,4-tetrahidroksi flavon), dan (2,5,7,4-tetrahidroksi isoflavon). Pada peneliti Adiana, *et al.*, (2011) juga melaporkan jenis senyawa flavonoid yang terdapat pada daun ketepang cina yaitu (antarkuinon) dan (kaemperol 3OHAI- gentiobiosida). Terdapat juga senyawa alkaloid yaitu adenin, krisoeriol, kuersetin, 5,7,4-trihidroflavon, n-dotriacontanol, n-triacontanol, asam stearat, asam palmitat ,3,5-trihidroksi-7-metilantrasena-9 (Liu, *et al.*, 2009).

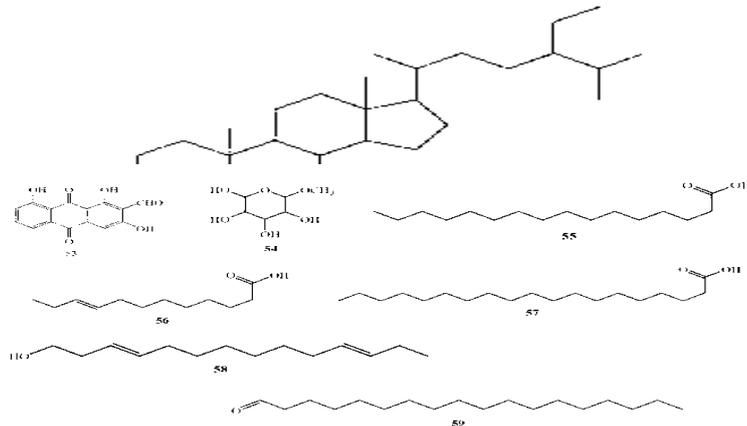


Gambar 2.2 Keterangan senyawa metabolit sekunder flavonol yaitu kaemperol, dan kaemperol-3-O-β-D-glucopyranoside, flavon yaitu, 5, 7, 4-tetrahidroksi flavon dan 2, 5, 7, 4-tetrahidroksi isoflavon, antarkuinnon dan kaemperol 30HAI- gentiobiosida sumber (Panichayupakaranant, *et al.*, 2004; Rahaman, *et al.*, 2008; Adiana, *et al.*, 2011).



Gambar 2.3 Keterangan senyawa metabolit sekunder alkaloid adenin, krisoeriol, kuersetin, 5, 7, 4-trihidroflavon, n-dotriacontanol, n-triacontanol, asam stearat, asam palmitat, 1, 3, 5 – trihidroksi - 7-metilantrasena-9 sumber (Liu, *et al.*, 2009).

Adapun pada bagian bunga gelinggang terdapat tiga jenis senyawa yaitu senyawa asam stearat, alanonal dan β -sitosterol- β -D-glukosida, dan pada penelitian Isah, *et al.*, (2015) terdapat senyawa β -d-mofuranosida, n-asam heksadekanoat, asam 9- deodecenoat, asam oleat, asam nonadekonat, 3, 11-tetradecadein-1-ol, dan oktadekanal.



Gambar 2.4 Keterangan senyawa metabolit sekunder pada bunga yaitu asam stearat, alanonal dan β -sitosterol- β -D-glukosida β -d-mofuranosida, n-asam heksadekanoat, asam 9- deodecenoat, asam oleat, asam nonadekonat, 3, 11-tetradecadein-1-ol, dan oktadekanal, sumber (Yadav, 2013 ; Isah, *et al.*, 2015).

2.1.4 Penyebaran

Gelinggang hidup liar di lahan terbuka ataupun agak terlindung, pinggir hutan, semak-semak belukar, tanah yang agak lembab, dekat dengan sumber air, ataupun lahan terlantar. Berkembang didataran rendah sampai ketinggian 1.400 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan ini merupakan gulma pada tanaman seperti karet, kelapa, serta kelapa sawit (Djauhariya, *et al.*, 2004).

2.1.5 Kegunaan

Gelinggang secara farmakologi memiliki khasiat sebagai pencahar, obat cacing, gatal-gatal, dan untuk obat kulit yang disebabkan oleh parasit kulit (Mahmudah, *et al.*, 2018). Adapun cara menggunakan daun gelinggang (*Senna alata* (L) Roxb.) secara tradisional ialah dengan cara merebus daunnya kemudian air rebusannya diminum, bisa juga dengan cara menggerus

daun kemudian ditambahkan sedikit air lalu setelah itu gosokan atau balurkan pada bagian kulit yang sakit (Hujjatusnaini, 2007).

2.2 Stres Oksidatif

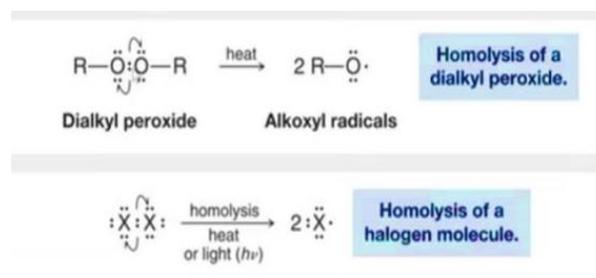
Stres oksidatif didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan didalam tubuh (Puspitasari, *et al.*, 2016). Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan serta kelebihan produksi radikal bebas (Rush, *et al.*, 2005). Adapun setiap orang mempunyai mekanisme penyeimbang yang berbeda, tergantung pada banyak faktor seperti pola makan, gaya hidup (merokok, mengkonsumsi alkohol, dan lain-lain), umur, serta faktor genetik (Sen, *et al.*, 2000). Stres oksidatif dapat meimbulkan kerusakan sel hal ini merupakan dasar patogenesis bagi proses penyakit kronik seperti kardiovaskuler, autoimun, pulmoner, gangguan metabolik serta Aging (penuaan) (Halliwell, *et al.*, 2007). Stress oksidatif terjadi sebab tidak seimbangnya jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan endogen yang diproduksi tubuh seperti *superoksida dismutase* (SOD), *Glutation peroksidase* (GPX), serta *katalase* (CAT). Kondisi ni dapat menimbulkan terbentuknya kehancuran sel yang bisa memunculkan berbagai penyakit semacam: kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Radikal bebas bisa terdapat di dalam tubuh sebab terdapatnya hasil samping dari proses oksidasi, serta pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, berolahraga atau beraktivitas fisik yang berlebihan, peradangan, serta terpapar polusi dari luar tubuh adapun contohnya asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, industri, dan radiasi matahari (Ardiansyah, 2007; Shafe, 2011).

2.2.1 Radikal Bebas

Radikal bebas ialah suatu gugus molekul atom atau ion yang mempunyai satu elektron yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan tersebut membuat molekul jadi reaktif serta sangat tidak stabil (Rimbach, *et al.*, 1999). Beberapa radikal bebas dalam tubuh merupakan derivat

nitrogen yang disebut *reactive nitrogen species* (RNS) dan derivat oksigen yang disebut *reactive oxygen species* (ROS). Radikal bebas lumayan banyak jenisnya tapi yang keberadaannya paling sering didalam tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS). Radikal-radikal bebas ini ialah hasil pemecahan homolitik dari ikatan kovalen suatu molekul atau pasangan elektron bebas suatu atom. ROS merupakan bagian dari hasil metabolisme sel normal atau sel yang terpapar zat-zat lain yang menimbulkan terjadinya inflamasi atau peradangan. ROS sebagian besar merupakan hasil dari respon fisiologis (ROS endogen) sumbernya dari hasil metabolisme sel normal dan sebagian kecil merupakan hasil paparan dari luar tubuh (ROS eksogen) yaitu oksigen reaktif sumbernya dari polutan lingkungan, radiasi, asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, minfeksi bakteri, jamur dan virus.

ROS terdiri dari superoksida (*O_2), hidroksil (*OH), peroksil (ROO*), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (^1O_2), oksida nitrit (NO*), peroksinitrit (ONOO*), asam hipoklorit (HOCl), dan hasil oksidasi lemak pada makanan.



Gambar 2.5 Reaksi homolitik sumber (Rimbach *et al.*, 1999)

2.2.1.1 Efek radikal bebas dalam tubuh

Keberadaan radikal bebas yang berlebihan serta produksi antioksidan yang tidak mencukupi dapat mengakibatkan kerusakan pada sel jaringan dan enzim-enzim. Kerusakan jaringan ini dapat disebabkan oleh gangguan oksidatif (Murray, 2009 ; Zheng, *et al.*, 2009).

Dapat mengakibatkan penyakit yang bersifat kronis adapun contoh penyakit yang sering dihubungkan dengan radikal bebas yaitu serangan

jantung, kanker, tekanan darah tinggi, jantung koroner, diabetes melitus serta dapat menurunkan fungsi ginjal. Untuk mencegah penyakit kronis karena radikal bebas diperlukan antioksidan (Fakriah *et al.*, 2019).

2.2.1.2 Sumber radikal bebas

Ada dua sumber radikal bebas yaitu sumber eksogen dan sumber endogen. Sumber eksogen biasanya berasal dari luar tubuh seperti polutan udara, radiasi, zat-zat kimia karsinogenik, asap rokok, bakteri, serta virus, sedangkan sumber endogen dapat berasal dari dalam tubuh manusia seperti proses oksidasi makanan.

Akibat begitu besarnya dampak pengaruh radikal bagi kesehatan manusia, sehingga tubuh harus memerlukan suatu asupan yang mengandung suatu senyawa yaitu antioksidan yang dapat menangkap dan menetralkan radikal bebas jadi dapat menghentikan reaksi–reaksi lanjutan yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif atau induksi suatu penyakit dapat dihentikan (Kikuzaki, *et al.*, 2002 ; Sibuea, 2003).

2.2.2 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit–penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Antioksidan adalah zat yang dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan akibat radikal bebas pada sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat mendonorkan elektron kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan mengganggu reaksi berantai radikal bebas (Murray, 2009).

2.2.2.1 Mekanisme kerja antioksidan.

Dalam melawan dari bahayanya radikal bebas, baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia memproduksi penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari 3 golongan yaitu (Anonim, 2012) :

- a. **Antioksidan Primer.** Antioksidan tersebut berfungsi untuk pencegahan pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), yaitu transferin, feritin, albumin.
- b. **Antioksidan Sekunder.** Antioksidan tersebut berfungsi untuk menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, yaitu *Superoxide Dismutase* (SOD), *Glutathion Peroxidase* (GPx) dan katalase.
- c. **Antioksidan Tersier.** Antioksidan tersebut berfungsi untuk memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, yaitu tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferase dan lipase.

2.2.2.2 Sumber- Sumber Antioksidan.

Antioksidan berdasarkan sumbernya, memiliki 3 golongan yaitu:

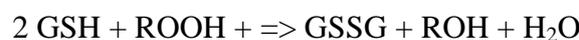
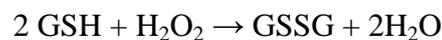
- a. **Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia.** yang lebih dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan SOD, GPx, dan katalase
- b. **Antioksidan Alami.** Antioksidan alami berasal dari tumbuhan yang banyak dikonsumsi dan berasal dari tumbuhan yang sudah diisolasi. Antioksidan yang terdapat pada tumbuhan yaitu mengandung vitamin C, vitamin E, polienol, karoten, bioflavonoid, katekin dan resveratol
- c. **Antioksidan Sintetik.** Antoksidan sintetik dapat digunakan dalam makanan untuk menjaga kualitas dan mencegah perubahan sifat kimia makanan terutama karena proses oksidasi yang terjadi selama penyimpanan. Contohnya BHA (*Butylated Hidroxyanisol*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), TBHQ (*Tert-Butyl Hidroxy Quinon*), propel galat (Ardiyansyah, 2007).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim yang memiliki antioksidan, diproduksi oleh tubuh manusia untuk mencegah radikal bebas, seperti: *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT) dan *glutation peroksidase* (GPX). seperti: *Superoksida*

Dismutase (SOD), serta antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh atau pada makanan.

1) Glutation peroksidase. Glutation Peroksidase adalah selanon proteomik dan terdiri dari tujuh glutathione peroksidase (GPX) GPX1-GPX7. Semua enzim GPX mengkatalis reduksi H_2O_2 atau hidroperoksida organik (ROOH) menjadi air (H_2O) dan alkohol (ROH), adapun glutathione ini sering ditemukan dalam sitosol hati (Callahan, *et al.*, 2001)

Ketika GSH bertindak sebagai donor elektron, ia menyumbangkan sepasang ion hidrogen dan GSH teroksidasi menjadi glutathione disulfida (GSSG) dengan mekanisme reaksi sebagai berikut :



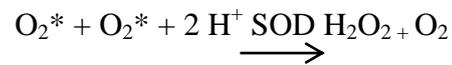
Meskipun reaksi yang dikatalis oleh semua GPX sama, tetapi GPX secara individu mempunyai perbedaan dalam variasi spesifitas substrat dan lokasi seluler (sitosol dan mitokondria). Berikut tabel karakteristik fisik dan lokasi jaringan GPX1-GPX7 pada manusia

Sifat	GPX ₁	GPX ₂	GPX ₃	GPX ₄	GPX ₅	GPX ₆	GPX ₇
Lokasi seluler	Sitosol dan mitokondria	Sitosol	Ruang ekstraseluler dan sitosol	membran inti dan mitokondria	Ekstraseluler dan membran	-	sitosol
Subunit	Tetramerik	Tetramerik	Tetramerik	Monomerik	Dimerik	-	-
Massa molekul (kDa)	21	22	22,5	19	24	-	-
Lokasi jaringan	Semua jaringan	Lambung dan usus	Semua jaringan	Testes, spermatozoa, jantung dan otak	Hati dan ginjal	Olfactory epithelium	mammary

Gambar 2.6 Tabel karakteristik fisik dan lokasi jaringan GPX1-GPX7 pada manusia sumber (Masella, *et al.*, 2009).

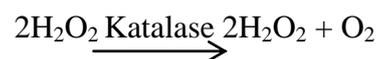
2) Superoksida Dismutase (SOD). Radikal bebas dalam tubuh dapat dinetralkan dengan adanya suatu antioksidan endogen, termasuk superoxide dismutase (SOD). Superoksida dismutase adalah metaloenzim yang mengkatalis reaksi reduksi radikal anion superoksida (O_2^*) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Enzim ini tidak stabil terhadap panas, sangat stabil dalam kondisi basa, dan dapat disimpan pada suhu 5°C hingga 5 tahun. Aktivitas SOD tertinggi terdapat pada hati, kelenjar adrenal, ginjal, darah, limfa,

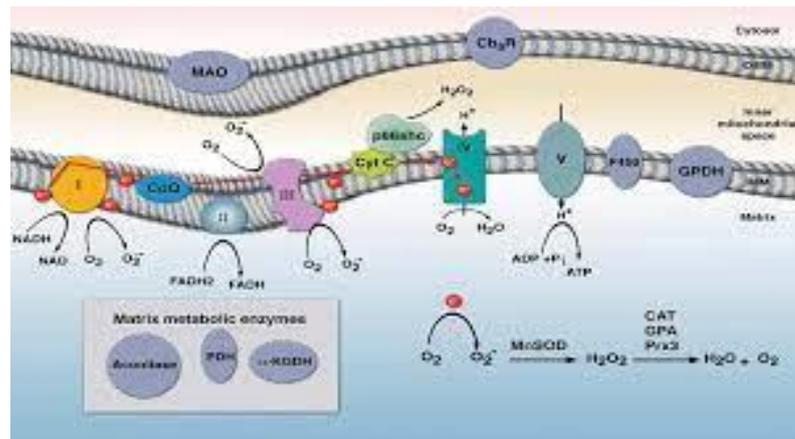
pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium serta timus (Murray, 2009). Adapun reaksinya adalah



Secara fisiologis, tubuh memproduksi radikal bebas melalui proses fosforilasi oksidatif. Selama proses ini, empat elektron ditambahkan untuk mereduksi O_2 menjadi H_2O , membentuk radikal anion superoksida, yang diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim SOD. Dengan fosforilasi mitokondria, satu molekul O_2 direduksi menjadi dua molekul H_2O oleh empat elektron bersama dengan ion H^* . Jika jumlah elektron pereduksi O_2 kurang dari 4, proses fosforilasi tidak lengkap dan radikal bebas terbentuk. Fungsi abnormal dari ekstraseluler superoksida dismutase (ECSOD) adalah aterosklerosis. Aterosklerosis merupakan penyebab utama penyakit jantung dan pembuluh darah lainnya yang ditandai dengan ateroma (plak kekuningan), yang mengandung lipid dan kolesterol pada dinding arteri dan mempersempit lumen arteri (Cord, *et al.*, 2006 ; Goodsell, 2007 ; Murray *et al.*, 2009 ; Grasi *et al.*, 2010).

- 3) **Katalase.** Katalase adalah enzim yang terdiri dari lebih dari 500 asam amino dan memiliki gugus porfirin. Enzim ini mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi oksigen (O_2) dan air (H_2O). Aktivitas katalase optimal pada pH 7 dan dapat meningkat dengan meningkatnya akumulasi H_2O_2 . Katalase tingkat tinggi ditemukan di hati, darah, ginjal, otak, paru-paru, jaringan adiposa, dan kelenjar adrenal (Murray, 2009).





Gambar 2.7 Mekanisme kerja antioksidan enzimatik (Finkel, 2011).

Dalam Gambar di atas, terlihat O_2^* (radikal superoksida) yang dihasilkan dalam perubahan NADH menjadi NAD, FADH₂ menjadi FADH diubah menjadi H₂O₂ oleh MnSOD dan selanjutnya produk H₂O₂ diubah menjadi H₂O dan O₂ oleh katalis.

2.2.3 Peran Senyawa Metabolit Sekunder dalam Mencegah Radikal Bebas

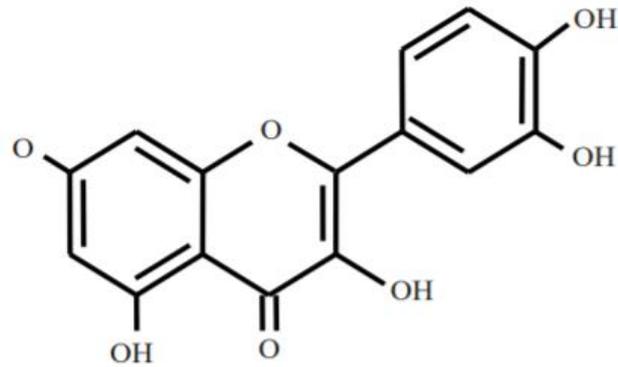
Salah satu metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan adalah flavonoid dan fenolik

2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan pada jaringan tanaman (Rajalakshmi, 1985). Flavonoid termasuk dalam struktur kimia C₆C₃C₆ suatu kelas senyawa fenolik dengan dua cincin aromatik yang terikat dalam unit 3 karbon (markham, 1988).

Kerja senyawa flavonoid sebagai antioksidan dapat dibagi menjadi dua mekanisme yaitu menangkal atau mengikat radikal (Cook, 1996). Mekanisme menangkal radikal adalah dengan menekan pembentukan radikal untuk mencegah kerusakan oksidatif, sedangkan mekanisme mengikat radikal bebas yaitu dengan menyumbangkan atom hidrogen atau elektron untuk membuat radikal bebas menjadi stabil (Lim, *et al.*, 2007). Mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah menangkap ROS secara langsung dengan cara mencegah regenerasi ROS dan secara tidak langsung

dengan meningkatkan aktivitas antioksidan enzim antioksidan seluler. Flavonoid merupakan senyawa yang paling efektif sebagai scavenger spesies reaktif, seperti super dioksida, radikal peroksil, dan peroksinitrit dengan cara mentransfer atom H⁺ (Middleton, *et al.*, 2000; Akhlaghi, 2009).



Gambar 2.8 Kerangka flavonoid (Abdi, 2010)

2.2.3.2 Fenolik

Senyawa fenolik ialah senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada bagian tanaman, senyawa yang dapat digolongkan sebagai senyawa fenolik adalah terdapat satu atau atau lebih gugus hidroksil (OH) yang menempel pada struktur cincinnya. Adapun pada struktur senyawa terdapat satu gugus hidroksil disebut senyawa fenol, sedangkan jika gugus hidroksilnya lebih dari satu disebut senyawa polifenol (Hoelz, *et al.*, 2010). Mekanisme senyawa fenolik sebagai antioksidan dijelaskan oleh Janeiro (2004) yaitu melalui kemampuan dari gugus fenol untuk mengikat radikal bebas dengan melepaskan atom hidrogen melalui proses transfer elektron, dan fenol diubah menjadi radikal fenoksil. Selanjutnya, radikal fenoksil yang terbentuk dari reaksi fenol dengan radikal bebas distabilkan oleh efek resonansi. Untuk itu, turunan fenolik merupakan donor hidrogen yang sangat baik yang dapat menghambat reaksi yang terjadi akibat senyawa radikal. Senyawa fenol ini juga dikenal sebagai inhibitor radikal (Togo, 2004).

Contoh senyawa fenolik adalah asam fenolik, flavonoid, tanin terkondensasi, kumarin dan alkil resorsinol (Dykes, 2007). Senyawa fenolik dalam tanaman terdapat dalam bentuk glikosida atau esternya

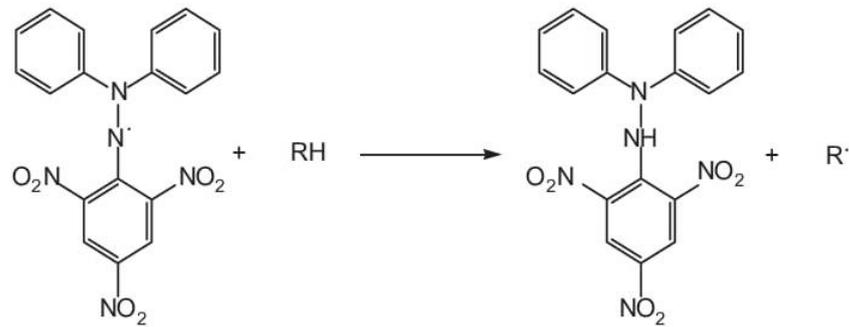
(Proestos, *et al.*, 2006). Golongan yang terbanyak dari senyawa fenolik adalah flavonoid (Markham, 1988).

2.2.4 DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl*)

DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl*) merupakan radikal bebas dengan berat molekul relatif 394,33 ($\text{MrC}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6 = 394,33$), stabil pada suhu kamar dan memiliki panjang gelombang maksimum 515-517 nm. Antioksidan akan memberikan sebagian atom hidrogen ke radikal bebas DPPH agar menjadi lebih stabil (DPPH-H).

Prinsip metode DPPH dapat dengan melihat perubahan warna DPPH di dalam larutan dari ungu pekat menjadi kuning pucat dikarenakan adanya aktivitas sampel yang mengandung antioksidan sehingga dapat menangkap dan meredam aktivitas radikal bebas. Semakin banyak DPPH yang diredam, warna larutan semakin berubah menjadi pucat. Perubahan warna semakin banyak dilihat secara kualitatif juga menggunakan spektrofotometer UV-Vis (*spektrofotometer ultraviolet visibel*) dan dinilai absorbansinya. Pada spektrofotometer akan dilihat perubahan serapan warna (nilai absorbansi). Absorbansi yang baik untuk larutan DPPH adalah kurang dari satu. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan pada sampel dilihat dari nilai *efficient concentration* (EC_{50}) atau *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu nilai dimana 50% DPPH kehilangan sifat radikal bebasnya. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel. Pengerjaan menggunakan cahaya dan oksigen (Syarif, *et al.*, 2015).

Pengukuran antioksidan dengan menggunakan metode DPPH, merupakan metode pengukuran yang sederhana, cepat serta tidak membutuhkan banyak reagen seperti metode lainnya. Hasil pengukuran metode DPPH secara umum menunjukkan kemampuan antioksidan sampel, bukan berdasarkan jenis radikal yang dihambat (Sanusi, *et al.*, 2013).



Gambar 2.9 struktur DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl) sumber Sanusi,*et al.*, 2013).

2.2.5 Vitamin C

Antioksidan adalah zat yang dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan radikal bebas. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif.

Suplemen makanan antioksidan yang paling umum digunakan adalah asam askorbat atau vitamin C. Vitamin C telah menjadi subjek penting dalam bidang biokimia dan makanan. Vitamin C memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan manusia (Rusiani, *et al.*, 2020). Vitamin C merupakan antioksidan yang mampu menetralkan stres oksidatif melalui proses transfer elektron (Caritá, *et al.*, 2020). Vitamin C dapat mengurangi ROS pada dosis yang tepat. Selain itu, penelitian dengan plasma manusia telah menunjukkan bahwa vitamin C efektif dalam mencegah peroksidasi lipid yang disebabkan oleh akumulasi ROS (Sunil, *et al.*, 2017). Adapun mekanisme vitamin C sebagai antioksidan ialah dengan cara menyumbang elektron untuk mencegah senyawa lain yang sedang teroksidasi dan memulung anion superoksida, radikal hidroksil, dan lipid hidroperoksida (Popovic, *et al.*, 2015). Suplementasi vitamin C sebagai antioksidan eksogen dapat mengurangi radikal bebas, menekan peroksidasi lipid dan mencegah terjadinya kerusakan sel (Yimcharoen, *et al.*, 2019).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi yang digunakan tergantung pada jenis, sifat fisik, dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan diekstraksi. Pelarut yang digunakan tergantung pada polaritas senyawa yang akan disari, dari yang bersifat non polar hingga polar, atau sering disebut ekstraksi bertingkat. Simplisia dikumpulkan dan dibersihkan dari pengotor dengan cara pemilihan (pemisahan simplisia yang tidak digunakan) atau pencucian. Dalam melakukan ekstraksi sebaiknya digunakan simplisia yang segar, salah satu contoh pengeringan yang sering dilakukan dengan aliran udara. Sebelum simplisia diekstrak, simplisia Kering dapat disimpan dalam wadah tertutup rapat dan tidak terlalu lama, agar mencegah timbulnya hama/kutu yang dapat merusak kandungan kimia, pengecilan ukuran diperlukan agar proses ekstraksi berjalan cepat (Endang Hanani, 2014).

2.3.1 Metode Ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan konvensional dan non konvensional, adapun konvensional terdiri dari cara dingin (maserasi, perkolasi), dan cara panas (refluks, digesti, sokletasi, infusasi, dekoktasi), dan konvensional (UAE) :

2.3.1.1 Maserasi.

Maserasi adalah proses penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada temperatur kamar. Maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus-menerus disebut maserasi kinetik sedangkan yang dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi.

Menurut Farmakope Indonesia, pelarut yang dapat digunakan pada maserasi adalah air atau etanol. Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol karena etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut, diantaranya yaitu etanol bersifat lebih selektif, bersifat non toksik (tidak

beracun), etanol bersifat netral, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan (Marjoni, 2016).

2.3.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap perendaman bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak) terus-menerus hingga diperoleh perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2.3.1.3 Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut dengan temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan menggunakan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

2.3.1.4 Digesti

Digesti adalah proses penyarian dengan pengadukan kontinu pada temperature lebih tinggi daripada temperature ruangan, yaitu secara umum biasanya dilakukan pada temperatur 40-50°C.

2.3.1.5 Sokletasi

Sokletasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan dengan menggunakan alat soklet sehingga menjadi ekstraksi kontinu dengan pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2.3.1.6 Influidasi

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada tempertatur penangas air mendidih, temperatur terukur 90-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

2.3.1.7 Dekoktasi

Dekokta adalah infus yang waktunya lebih lama (lebih dari 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air.

2.3.1.8 UAE

Ultrasonic-assisted extraction (UAE) adalah salah satu metode ekstraksi berbantu ultrasonik. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi diatas pendengaran manusia (≥ 20 kHz). Metode ekstraksi ini digunakan untuk memperoleh kandungan antioksidan yang lebih tinggi dengan waktu yang relatif singkat. Ultrasonik bersifat non-destructive dan non-invasive sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (McClements, 1995). Adanya bantuan ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Mason, 1990).

2.3.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat serta belum mengalami pengolahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Formularium Ramuan Obat Herbal, 2017).

2.3.3 Cara Pembuatan Simplisia

Berikut tahap pembuatan simplisia :

2.3.3.1 Sortasi Basah

Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran atau benda asing dan bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia, adapun kotoran tersebut seperti tanah, kerikil, rumput, tanaman lain yang mirip, bahan yang rusak atau busuk, serta bagian tanaman lain yang memang harus dipisahkan dan dibuang. Pemisahan bahan simplisia dari kotoran ini bertujuan untuk menjaga kemurnian dan mengurangi kontaminasi awal yang dapat mengganggu proses selanjutnya seperti mengurangi cemaran mikroba.

2.3.3.2 Pencucian

Pencucian bertujuan menghilangkan tanah dan kotoran lain yang menempel pada bahan simplisia. Proses ini dilakukan dengan menggunakan air bersih. Pencucian sebaiknya dilakukan dengan menggunakan air mengalir agar kotoran yang terlepas tidak menempel kembali.

2.3.3.3 Penirisan

Proses pemirisan bertujuan untuk mengurangi atau menghilangkan kandungan air dipermukaan bahan dan dilakukan sesegera mungkin setelah pencucian. Selama penirisan, bahan dibolak-balik untuk mempercepat penguapan dan dilakukan di tempat teduh dengan aliran udara cukup agar terhindar dari pembusukan.

2.3.3.4 Pengubahan bentuk

Beberapa jenis bahan baku atau simplisia seringkali harus diubah menjadi bentuk lain, misalnya irisan, potongan, dan serutan untuk memudahkan kegiatan pengeringan, penggilingan, pengemasan, penyimpanan dan pengolahan selanjutnya. Pengubahan bentuk harus dilakukan secara tepat dan hati-hati agar tidak menurunkan kualitas simplisia yang diperoleh. Simplisia yang mengalami perubahan bentuk hanya terbatas pada simplisia akar, rimpang, umbi, batang, kayu, kulit batang, daun dan bunga. Semakin tipis ukuran hasil rajangan atau serutan, maka akan semakin cepat proses penguapan air sehingga waktu pengeringannya menjadi lebih cepat. Namun ukuran hasil rajangan yang terlalu tipis dapat menyebabkan simplisia mudah rusak saat dilakukan pengeringan.

2.3.3.5 Pengeringan

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, menghentikan reaksi enzimatik, dan mencegah pertumbuhan kapang, jamur, dan jasad renik lain. Dengan matinya sel bagian tanaman, maka

proses metabolisme (seperti sintesis dan transformasi) terhenti, sehingga senyawa aktif yang terbentuk tidak diubah secara enzimatik.

2.3.3.6 Sortasi kering

Prinsip kegiatan sortasi kering sama dengan sortasi basah, Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing dan simplisia yang belum kering benar. Kegiatan ini dilakukan untuk menjamin bahwa simplisia benar-benar bebas dari bahan asing. Kegiatan ini dilakukan secara manual.

2.3.3.7 Penyimpanan

Proses ini merupakan upaya untuk mempertahankan kualitas fisik dan kestabilan kandungan senyawa aktif, sehingga tetap memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan. Oleh karena itu, perlu perhatian khusus terhadap wadah dan gudang penyimpanan simplisia, suhu, kelembapan, intensitas cahaya, dan lain-lain selama penyimpanan . Simplisia dapat disimpan di tempat dengan suhu kamar (15-30 °C), tempat sejuk (5-15 °C), atau tempat dingin (0-5 °C), tergantung pada sifat dan ketahanan simplisia.

2.4 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur spektrum serapan kandungan tumbuhan dalam larutan yang sangat encer dengan pembanding blangko pelarut. Senyawa tanpa warna diukur pada panjang gelombang 200-400 nm, senyawa berwarna pada panjang gelombang 400-800 nm. Prinsip kerja spektrofotometer UV- Vis yaitu interaksi sinar ultraviolet atau tampak dengan molekul sampel. Energi cahaya akan mengeksitasi elektron terluar molekul ke orbital lebih tinggi (Harborne, 1987).

Hal- hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis sebagai berikut :

1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang digunakan untuk analisis kuantitatif yaitu panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum.

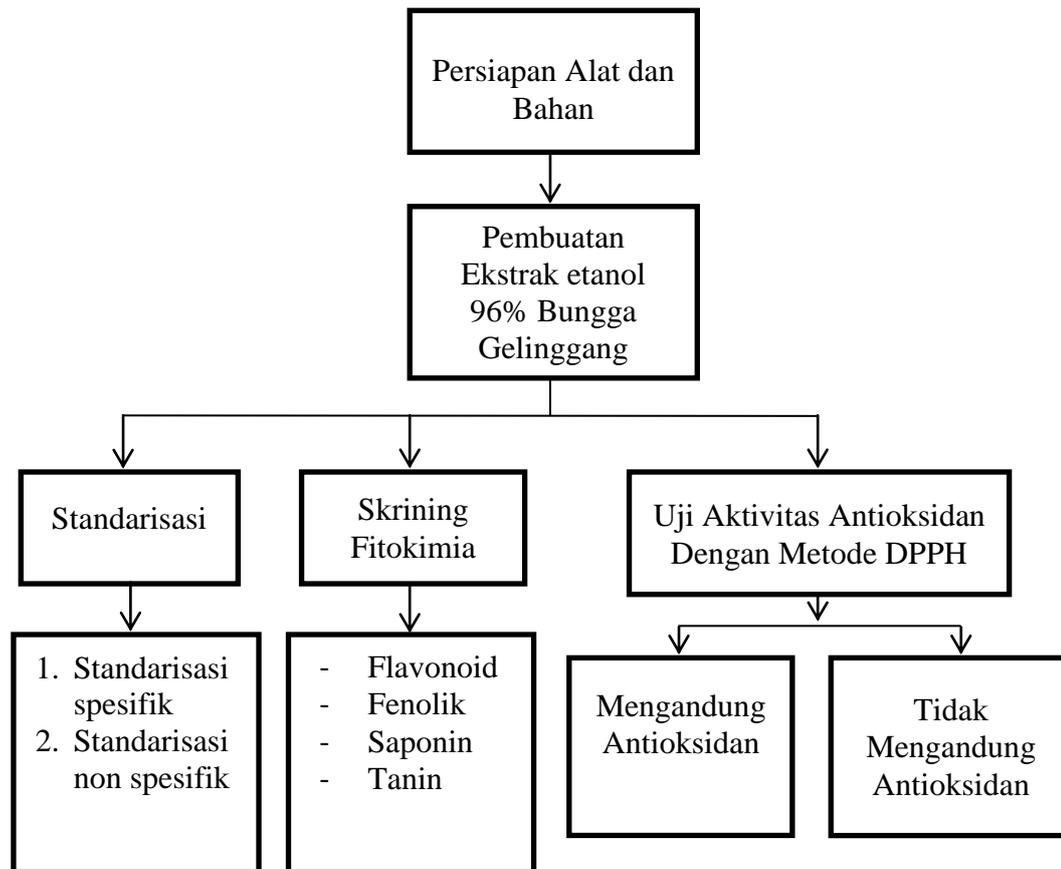
2. Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing–masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Jika kurva kalibrasi berupa garis lurus maka hukum Lambert-Beer terpenuhi.

3. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,6. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Gandjar, *et al.*, 2007).

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.10 Kerangka konsep