

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Tanaman Sirsak



Gambar 2.1 Tanaman Sirsak

(Sumber : Dokumen Pribadi, 2022)

Tanaman sirsak memiliki nama spesies *Annona muricata* Linn, merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh sepanjang tahun jika kondisi air tanah terpenuhi selama pertumbuhannya (Permatasari, 2019). Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) berasal dari karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan (Hermawan dkk, 2013). Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki rasa asam dan manis, sirsak tumbuh baik di seluruh Indonesia, banyak tumbuh di pekarangan rumah dan diladang-ladang sampai ketinggian tempat kira-kira 1000 m di atas permukaan laut (Daulay, 2021).

Sirsak merupakan jenis tanaman yang paling mudah untuk tumbuh diantara jenis – jenis *Annona* lainnya dan membutuhkan iklim tropik yang hangat dan lembab. Tanaman sirsak akan tumbuh dengan sangat baik pada iklim bersuhu 22-28° C dengan kelembaban relatif 60-80 % dan curah hujan berkisar antara 1500-2500 mm per tahun (Astuti, 2020).

Keadaan yang terlalu ekstrem seperti terlalu panas atau terlalu dingin akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman daun sirsak. Pertumbuhan sangat terhambat oleh cuaca yang dingin, sedangkan di musim kemarau tanaman sirsak akan menyesuaikan diri terhadap lingkungannya dengan merontokkan daunnya untuk meminimalkan penguapan. Tanaman sirsak dapat tumbuh dan berkembang dengan baik di tanah dengan aliran air yang baik sebab tanaman sirsak tidak tahan dengan genangan air. Sirsak (*Annona muricata* Linn.) termasuk tanaman yang dapat tumbuh dan berbuah sepanjang tahun apabila air tanah mencukupi selama pertumbuhannya (Soeryoko, 2012).

a. Klasifikasi

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)

Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)

Kelas : *Magnoliopsida* (Berkeping dua / dikotil)

Ordo : *Magnoliales*

Famili : *Annonaceae*

Genus : *Annona*

Spesies : *Annona muricata* Linn

Nama Umum : *Graviola* (Brazil), *Soursoup* (Inggris), *Guanabana* (Spanyol), Nangka Sabrang atau Nangka Belanda (Jawa), Nangka Walanda atau Sirsak (Sunda).

(Kurniasih dkk, 2015).

b. Morfologi

1) Daun

Tanaman sirsak memiliki daun berwarna hijau tua dan muda dengan lebar 3-7cm, panjang 6-18 cm, bentuk bulat telur, ujung lancip dan ada yang tumpul, daun bagian atas mengkilap dan bagian bawah gundul kusam. Daun tanaman sirsak ini memiliki bau yang sangat menyengat dengan tangkai 3-10 mm (Arfianto, 2018).

2) Bunga

Tanaman sirsak memiliki bunga tunggal dan memiliki berbagai macam putih sehingga disebut berpistil majemuk. Mahkota bunga berjumlah 6 sepalum terdiri 2 lingkaran, berbentuk segitiga, tebal dan kaku, berwarna kuning keputihan dan setelah tua akan mekar dan menjadi buah (Arfianto, 2018).

3) Buah

Tanaman sirsak memiliki buah berwarna hijau kekuningan jika mulai matang dan hijau muda ketika belum matang. Bentuk buah sirsak ada yang lonjong dan ada yang oval, dengan struktur kulit berduri kehitaman dan tidak terlalu tajam. Bagian dalam buah berwarna putih, lembek dan memiliki biji berwarna kehitaman (Arfianto, 2018).

4) Biji

Tanaman sirsak memiliki biji kehitaman atau coklat berbentuk lonjong dan bulat dengan panjang 16,8 mm dan lebar 9,6 mm. Memiliki jumlah yang sangat bervariasi mencapai 20-70 butir biji secara normalnya. Biji yang berwarna putih kecoklatan berarti biji tersebut tidaklah normal (Arfianto, 2018).

c. Kandungan kimia

Kandungan kimia di dalam daun sirsak berupa alkaloid, tannin dan beberapa kandungan lainnya termasuk senyawa *annonaceous / acetogenins* (Mayang & Bilal, 2020). Selain itu memiliki kandungan senyawa flavonoid, polifenol, Saponin (Handayani, 2015; Legi dkk, 2021).

d. Khasiat

Daun sirsak mempunyai kegunaan sebagai obat kanker. Keunggulan daun sirsak dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menjadi suplemen antioksidan bagi kesehatan (Rengga & Sutino, 2013). Juga bisa sebagai antioksidan untuk penyakit kanker, anti

mikroba dan anti virus (Puspitasari dkk, 2016). Selain itu digunakan untuk pengobatan penyakit diantaranya mengobati sakit pinggang, eksim, rematik, diabetes, hipertensi, asam urat, batuk, wasir dan asma (Elidar, 2017).

2. Simplisia

a. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 2000).

b. Penggolongan Simplisia

Simplisia terdiri dari 3 macam antara lain :

1) Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia dari seluruh tanaman, bagian tanaman. Eksudat tanaman adalah kandungan seluler yang terjadi secara spontan pada tanaman atau sengaja dikeluarkan dari sel tanaman (Depkes RI, 2000). Contoh simplisia nabati : Rimpang bengle (*Zingiber purpureum Roxb*), Daun teh (*Camellia sinensis L.*), Daun tapak liman (*Elephantopus scaber L.*), Rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) (Kepmenkes, 2017).

2) Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah zat sederhana yang tidak dalam bentuk kimia murni, tetapi dalam bentuk hewan utuh atau nutrisi yang dihasilkan oleh hewan (Depkes RI, 2000). Contoh simplisia Hewani : madu, minyak ikan cod, minyak ikan paus, cacing tanah, bisa ular, undur-undur, kuning telur, susu kambing, minyak bulu domba, serum, dan vaksin (Murwani & Iswarin, 2017).

3) Simplisia Pelikan atau Mineral

Simplisia pelikan adalah bahan pelikan mentah atau yang belum diolah dalam bentuk kimia (Depkes RI, 2000). Contoh

simplisia pelikan atau mineral : *Parrafinum Liquidum, Parrafinum Solidum, Vaselineum Album, dan Vaselineum Flavum* (Emelda, 2020).

c. Tahap Pembuatan Simplisia

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut :

1) Teknik pengumpulan

Panen merupakan salah satu rangkaian tahapan dalam budidaya tanaman obat. Waktu, cara pemanenan dan penanganan tanaman yang tepat dan benar merupakan faktor penentu kualitas dan kuantitas hasil tanaman. Setiap jenis tanaman memiliki waktu dan cara panen berbeda. Pemanen dapat dilakukan dengan tangan atau menggunakan alat (mesin) (Mukhriani, 2014).

2) Waktu pengumpulan atau panen

Kadar kandungan zat aktif suatu simplisia ditentukan oleh waktu panen, umur tanaman, bagian tanaman yang diambil dan lingkungan tempat tumbuhnya. Pada umumnya waktu pengumpulan sebagai berikut :

a) Daun

Dikumpulkan sewaktu tanaman berbunga dan sebelum buah menjadi masak. Waktu pemetikan daun yang paling baik yaitu pada saat pagi hari dengan tujuan untuk mendapat senyawa aktif yang tinggi karena jika pemetikan dilakukan pada siang hari tanaman sudah mengalami proses fotosintesis sehingga senyawa yang akan ditarik tidak optimal (Yuliani & Desmira, 2015). Pemanenan daun dilakukan pada saat tanaman telah tumbuh maksimal dan sudah memasuki periode matang fisiologis dan dilakukan dengan memangkas tanaman. Pemangkasan dilakukan dengan menggunakan pisau yang bersih atau gunting stek. Pemanenan yang terlalu cepat menyebabkan hasil produksi yang diperoleh rendah dan

kandungan bahan aktifnya juga rendah (Mukhriani, 2014). Daun yang memiliki kandungan kimia paling banyak yaitu pada daun ke 3 – 6 dari pucuk (Yuliantari dkk, 2017).

b) Bunga

Bunga yang digunakan dalam bentuk segar, pemanenan dilakukan pada saat bunga kuncup atau setelah pertumbuhannya maksimal. Berbeda dengan bunga yang digunakan dalam bentuk kering, pemanenan dilakukan pada saat bunga sedang mekar (Mukhriani, 2014).

c) Buah

Dipetik dalam keadaan tua. Buah harus dipanen setelah masak fisiologis dengan cara memetik. Pemanenan sebelum masak fisiologis akan menghasilkan buah dengan kualitas yang rendah dan kuantitasnya berkurang (Mukhriani, 2014).

d) Biji

Dikumpulkan dari buah yang masak sempurna. Pengambilan biji pada saat mulai mengeringnya buah atau sebelum semuanya pecah. Panen tidak bisa dilakukan secara serentak karena perbedaan waktu pematangan dari buah atau polong yang berbeda. Pemanenan biji dilakukan pada saat biji telah masak fisiologis. Fase ini ditandai dengan sudah maksimalnya pertumbuhan buah atau polong dan biji yang di dalamnya telah terbentuk dengan sempurna. Kulit buah atau polong mengalami perubahan warna misalnya kulit polong yang semula warna hijau kini berubah menjadi agak kekuningan dan mulai mengering (Mukhriani, 2014).

3) Sortasi basah

Sortasi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing untuk mengurangi jumlah pegotor yang ikut

terbawa dalam bahan. Pembersihan dilakukan terhadap banyak faktor seperti pembersihan dari bebatuan kecil yang menempel, potongan bagian tumbuhan yang tidak diperlukan, tanah, rumput, dedaunan dan lain sebagainya (Wahyuni, 2014).

4) Pencucian

Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba-mikroba yang melekat pada bahan. Perlu diperhatikan bahwa pencucian harus dilakukan sesingkat mungkin untuk menghindari terbuangnya zat yang terkandung dalam bahan (Mukhriani, 2014).

5) Perajangan

Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses selanjutnya seperti pengeringan, pengemasan dan penyimpanan. Perajangan biasanya dilakukan pada bahan seperti akar, rimpang, batang dan buah. Ukuran perajangan tergantung dari bahan yang akan digunakan dan berpengaruh pada kualitas simplisia yang dihasilkan. Perajangan terlalu tipis dapat mengurangi zat aktif yang terkandung dalam bahan. Sedangkan jika terlalu tebal, maka pengurangan kadar air dalam bahan agak sulit dan memerlukan waktu lama dalam penjemuran dan kemungkinan besar mudah ditumbuhi jamur (Mukhriani, 2014).

6) Pengeringan

Pengeringan adalah suatu cara pengawetan atau pengolahan pada bahan dengan cara mengurangi kadar air, sehingga proses pembusukan dapat terhambat. Dengan demikian dapat dihasilkan simplisia terstandar, tidak mudah rusak dan tahan disimpan dalam waktu yang lama. Proses pengeringan berpengaruh terhadap kandungan senyawa kimia maupun efek farmakologi yang terkandung dalam suatu tanaman obat terutama senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan (Luliana dkk, 2016). Pengeringan

bahan dapat dilakukan secara tradisional dengan menggunakan sinar matahari ataupun secara modern dengan menggunakan alat pengering seperti oven, rak pengering, blower ataupun dengan *fresh dryer* (Mukhriani, 2014).

Pengeringan dengan sinar matahari merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, akan tetapi dari segi kualitas alat pengering buatan (oven) dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat, namun penggunaan suhu yang terlampau tinggi dapat menyebabkan perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan. Kadar saponin ekstrak hasil pengeringan oven dan pengeringan matahari menunjukkan kadar tertinggi pada pengeringan dengan sinar matahari (Pangestu, 2018).

7) Penyimpanan

Penyimpanan simplisia dapat dilakukan di ruang biasa (suhu kamar) ataupun di ruang ber AC. Ruang tempat penyimpanan harus bersih, udaranya cukup kering dan berventilasi. Ventilasi harus cukup baik karena hama menyukai udara yang lembab dan panas (Mukhriani, 2014).

3. Ekstrak

a. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan cair, kental atau kering yang merupakan hasil proses ekstraksi atau penyarian suatu matriks atau simplisia menurut cara yang sesuai. Beberapa jenis ekstrak yang umumnya diketahui antara lain (Nasyanka dkk, 2020) :

- 1) Ekstrak cair : Ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi yang masih mengandung sebagian besar cairan penyari
- 2) Ekstrak kental : Ekstrak yang diperoleh apabila sebagian besar cairan penyari sudah diuapkan

- 3) Ekstrak kering : Ekstrak yang diperoleh jika sudah tidak mengandung pelarut/ cairan penyari
- 4) Tingtur (*Tinctura*) : Sediaan cair yang dibuat dengan cara maserasi atau perkolasi suatu simplisia dengan pelarut yang tertera pada masing-masing monografi

b. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen senyawa-senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang ada dalam bahan alam (Leba, 2017).

Prinsip ekstraksi adalah pelarut akan masuk ke dalam sel dan melarutkan senyawa aktif yang ada dalam sel sampel, sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara senyawa terlarut di dalam dan di luar sel. Pelarut merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi. Berdasarkan sifat kepolarannya, pelarut digolongkan menjadi 3 jenis, yaitu polar (seperti metanol, air dan etanol), semi polar (seperti aseton dan etil asetat) dan non polar (seperti heksana dan kloroform). Sedangkan, berdasarkan fungsinya, pelarut digolongkan menjadi 5 macam yaitu, *true solvent*, *diluent*, *latent*, *paint remover* dan media reaksi (Nasyanka dkk, 2020)

c. Metode Ekstraksi

Pembagian metode ekstraksi cukup beragam, salah satunya metode ekstraksi berdasarkan suhu dapat dibedakan menjadi, sebagai berikut:

- 1) Cara dingin
 - a) Maserasi

Maserasi merupakan salah satu jenis ekstraksi padat cair yang paling sederhana. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang

sesuai sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel. Sampel biasanya direndam selama 3-5 hari sambil di aduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan analit. Ekstraksi dilakukan berulang kali sehingga analit terekstraksi secara sempurna. Indikasi bahwa semua analit telah terekstraksi secara sempurna adalah pelarut yang digunakan sudah tidak berwarna (Leba, 2017).

Kelebihan ekstraksi ini adalah alat dan cara yang digunakan sangat sederhana, dapat digunakan untuk analit baik yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Kelemahannya adalah menggunakan banyak pelarut (Leba, 2017).

b) Perkolasi

Perkolasi merupakan salah satu jenis ekstraksi yang dilakukan dengan jalan mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel dalam suatu percolator. Pada ekstraksi jenis ini, pelarut ditambahkan secara terus-menerus, sehingga proses ekstraksi selalu dilakukan dengan pelarut yang baru. Pola penambahan pelarut yang dilakukan adalah menggunakan pola peneteskan pelarut dari bejana terpisah disesuaikan dengan jumlah pelarut yang keluar atau dilakukan dengan penambahan pelarut dalam jumlah besar secara berkala (Leba, 2017).

2) Cara panas

a) Refluks

Metode ekstraksi refluks merupakan suatu metode yang sering digunakan untuk mendapatkan suatu senyawa pada tumbuhan melalui pemanasan dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan pendingin balik (Vifta, 2017). Mekanisme kerja dari ekstraksi refluks yaitu pelarut yang digunakan akan menguap pada suhu yang digunakan, tetapi

akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung (Utami dkk, 2020). Metode refluks merupakan metode ekstraksi yang cukup sempurna karena refluks dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama (Marjoni, 2016).

b) Sokletasi

Sokletasi merupakan salah satu jenis ekstraksi yang menggunakan alat soklet. Pada ekstraksi ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah ekstraksi dilakukan secara terus menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Bila ekstraksi telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak. Biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut-pelarut yang mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah (Leba, 2017).

Sokletasi dilakukan dengan cara pemanasan pelarut. Uap pelarut yang dihasilkan mengalami pendinginan dalam kondensor dan secara kontinyu akan membasahi sampel dan secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa analit. Proses ini berlangsung kontinyu. Pelarut yang digunakan dapat diuapkan kembali dan dipisahkan dari analit. Sokletasi dapat dihentikan dengan cara menghentikan pemanasan (Leba, 2017).

c) Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperature yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu pada suhu 40-50°C (Emelda, 2020).

d) Infus

Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90°C) selama 15 menit (Emelda, 2020).

e) Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit (Emelda, 2020).

4. Pelarut

Pelarut pada umumnya adalah zat berada pada larutan dalam jumlah yang besar, sedangkan zat lainnya dianggap sebagai zat terlarut. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi haruslah merupakan pelarut terbaik untuk zat aktif yang terdapat dalam sampel atau simplisia, sehingga zat aktif dapat dipisahkan dari simplisia dan senyawa lainnya yang ada dalam simplisia tersebut (Marjoni, 2016).

Pelarut berdasarkan kepolaran :

a. Pelarut polar

Pelarut polar adalah senyawa yang memiliki rumus umum R-OH dan menunjukkan adanya atom hydrogen yang menyerang atom elektronegatif (oksigen). Pelarut dengan tingkat kepolaran yang tinggi merupakan pelarut yang cocok baik untuk semua jenis zat aktif (universal) karena disamping menarik senyawa yang bersifat polar, pelarut polar juga tetap dapat menarik senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah. Contoh pelarut polar diantaranya adalah : air, methanol, etanol (Marjoni, 2016).

1) Metanol

Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik analit berupa alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid (Thompson, 1985). Metanol memiliki rumus kimia

CH₃OH (Chen dkk, 2019). Metanol mempunyai struktur paling sederhana dan dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder. Selain itu, dibandingkan dengan pelarut lain metanol memiliki sifat mudah menguap sehingga pelarut pada ekstrak lebih mudah diuapkan tanpa merusak kandungan kimia dalam ekstrak (Hardianti, 2015).

Berikut adalah tabel sifat-sifat metanol (Chen dkk, 2019) :

Tabel 2.1 Sifat-Sifat Metanol

Sifat-sifat	Karakteristik
Berat Molekul	32,043 g/mol
Titik Lebur	-98,68°C
Titik Didih	64,7°C
Metanol mudah menguap, larut dalam air, mudah terbakar, tidak berwarna, dan memiliki bau yang khas (berbau lebih ringan dari pada etanol)	

2) Air

Air (H₂O) merupakan salah satu pelarut yang mudah, murah dan dipakai secara luas oleh masyarakat. Pada suhu kamar, air merupakan pelarut yang baik untuk melarutkan berbagai macam zat seperti : Garam-garam alkaloida, glikosida, asam tumbuh-tumbuhan, zat warna dan garam-garam mineral lainnya. Selain itu, air dapat mengembangkan simplisia sedemikian rupa, sehingga akan menyulitkan dalam ekstraksi terutama dengan metode perkolasi (Marjoni, 2016).

Tabel 2.2 Sifat-Sifat Air (Yaws, 1999).

Sifat-sifat	Karakteristik
Rumus molekul	H ₂ O
Berat molekul	18,02 g/gmol
Titik didih	-100°C
Viskositas	0,665 cp (30°C)
Densitas	0,9982 g/cm ³ (25°C)

3) Etanol

Etanol (C_2H_6O) Berbeda dengan air yang dapat melarutkan berbagai macam zat aktif, etanol hanya dapat melarutkan zat-zat tertentu saja seperti alkaloida, glikosida, damar-damar dan minyak atsiri. Keuntungan dari penggunaan etanol sebagai pelarut adalah ekstrak yang dihasilkan lebih spesifik, dapat bertahan lama karena disamping sebagai pelarut, etanol juga berfungsi sebagai pengawet (Marjoni, 2016).

Tabel 2.3 Sifat-Sifat Etanol (Kirk & Othmer, 1998).

Sifat-sifat	Kakteristik
Berat molekul	46 gr/mol
Densitas	0,7893 gr/mL
Titik didih	78,32°C
Titik beku	-114,1°C
Bentuk	Cairan
Warna	Bening
Besifat polar, mudah terbakar dan bersifat volatile	

b. Pelarut non polar

Pelarut non polar merupakan senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang rendah dan tidak larut dalam air. Pelarut ini baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa sekali tidak larut dalam pelarut polar seperti minyak. Contoh pelarut non polar adalah : heksana & chloroform (Marjoni, 2016).

1) Heksana

Heksana (C_6H_{14}) adalah senyawa yang berasal dari hasil penyulingan minyak bumi. Heksana merupakan pelarut yang baik untuk lemak dan minyak. Pelarut ini biasanya dipergunakan untuk menghilangkan lemak dari simplisia sebelum simplisia tersebut dibuat sediaan galenik (Marjoni, 2016).

2) Chloroform

Chloroform (CHCl_3) tidak dipergunakan untuk sediaan dalam karena secara farmakologi, chloroform mempunyai efek toksik. Chloroform biasanya digunakan untuk menarik bahan-bahan yang mengandung basa alkaloida, damar, minyak lemak, dan minyak atsiri (Marjoni, 2016)

c. Pelarut semi polar

Pelarut semi polar adalah yang memiliki molekul yang tidak mengandung ikatan O-H. Pelarut dalam kategori ini, semuanya memiliki ikatan dipol yang besar. Ikatan dipol ini merupakan ikatan rangkap antara karbon dengan oksigen atau nitrogen. Pelarut semi polar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang juga bersifat semi polar dari tumbuhan. Contoh pelarut semi polar adalah : Aseton & etil asetat (Marjoni, 2016).

1) Aseton

Aseton ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) memiliki kemampuan hampir sama dengan heksana dimana acetone mampu melarutkan dengan baik berbagai macam lemak, minyak atsiri dan damar. Akan tetapi acetone tidak dipergunakan untuk sediaan galenik untuk pemakaian dalam (Marjoni, 2016).

2) Etil asetat

Etil asetat merupakan senyawa aromatik yang bersifat semipolar dengan rumus $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ sehingga dapat menarik analit yang bersifat polar dan nonpolar (Artini & Warditiani, 2013).

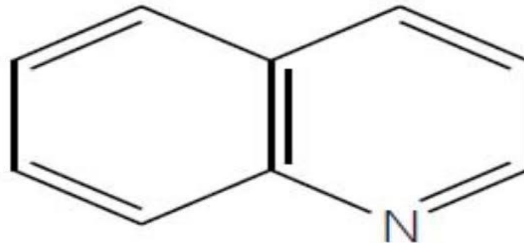
5. Metabolit

Tumbuhan memiliki dua jenis senyawa metabolit, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Senyawa metabolit primer merupakan hasil dari keseluruhan proses sintesis dan perombakan zat yang dilakukan

oleh organisme untuk kelangsungan hidup tumbuhan (Artini dkk, 2013). Pada tumbuhan, sebuah metabolit primer merupakan suatu senyawa esensial yang lazim ditemukan. Metabolit itu berfungsi dalam semua proses kehidupan tumbuhan tersebut (Emelda, 2020). Senyawa yang termasuk metabolit primer yaitu polisakarida, protein, lemak, dan asam nukleat (Artini dkk, 2013).

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan, umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi untuk mempertahankan diri dari lingkungan yang kurang menguntungkan seperti suhu, iklim, gangguan hama, penyakit tanaman, dan dapat juga digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit pada manusia (Agustina dkk, 2016). Metabolit sekunder yang sering dijumpai pada ekstrak tanaman yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (Dewatisari, 2017).

a. Alkaloid

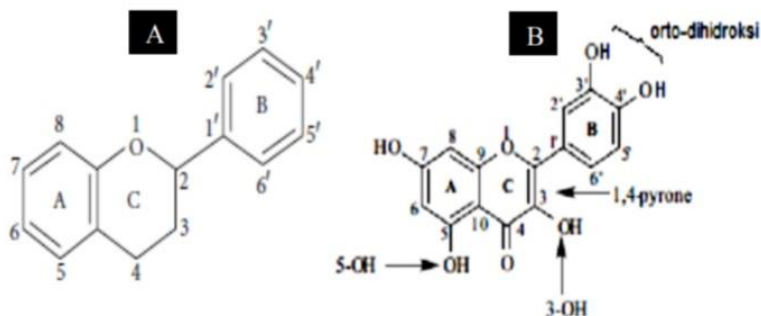


Gambar 2.2 Struktur Kimia Alkaloid (Julianto, 2019).

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan (Heliawati, 2018).

Ciri khas dari semua jenis alkaloid memiliki paling sedikit satu atom N yang bersifat basa yang merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Fungsi alkaloid mempunyai sifat farmakologi sebagai obat pereda sakit, obat penenang, obat antispasmodik, obat anestesi lokal serta obat stimulan syaraf dan uterus (Endrini, 2016).

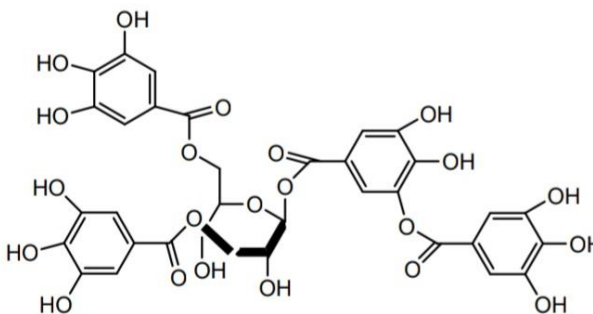
b. Flavonoid



Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid. A struktur dasar flavonoid. B struktur flavonoid lengkap (Anggraito dkk, 2018).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang banyak tersebar di alam. Flavonoid terdiri dari dua cincin benzene yang terikat pada propana membentuk senyawa C6-C3-C6. Flavonoid memiliki manfaat sebagai antioksidan, antikanker dan agen detoksifikasi (Endarini, 2016; Saxena dkk, 2013).

c. Tanin



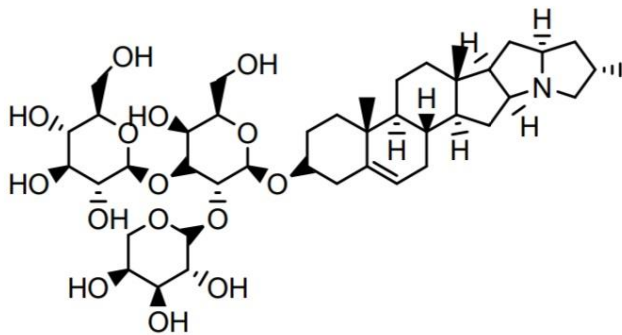
Gambar 2.4 Struktur kimia Tanin (Noer dkk, 2018).

Tanin adalah senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks yang terdiri dari C, H dan O serta membentuk molekul besar dengan berat molekul lebih besar dari 2000. Tanin merupakan senyawa yang memiliki rasa sepat serta disebut juga asam tanat atau galotanat. Secara kimia tanin dibagi menjadi 3 golongan yaitu tanin kondensasi atau tanin katekin terdiri dari polimer

senyawa flavonoid, tanin terhidrolisis atau tanin kompleks yaitu tanin yang berikatan dengan oksigen dan membentuk jembatan oksigen serta serta pseudotanin yaitu tanin yang memiliki berat molekul rendah (Irianty dkk, 2014; Amelia, 2015).

Tanin memiliki sifat mudah larut dalam air, larut alkohol, larut aseton, larut 1:1 dalam gliserol hangat, praktis tidak larut dalam petroleum, klorofom dan eter. Tanin berfungsi sebagai astringent, antidiare, antibakteri dan antikanker (Amelia, 2015).

d. Saponin



Gambar 2.5 Struktur kimia Saponin (Noer dkk, 2018).

Saponin merupakan jenis glikosida kompleks alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena dan banyak ditemukan dalam tumbuhan (Rasyidah, 2020) saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga tumbuhan yang mengandung saponin jika direaksikan dengan air dan dikocok akan menghasilkan buih (Gunawan, 2018; Widiastini dkk, 2021). Saponin dapat larut dalam lemak (hidrofobik) dan larut dalam air atau hidrofilik (Triwahyuni dkk, 2019) maka saponin bersifat *Amfifilik / surfactant properties* (Damayanti dkk, 2014) saponin tidak larut dalam eter (Rasyidah, 2020). Saponin tahan terhadap panas sampai 70°C (Wahyuni dkk, 2018). Saponin mempunyai sifat yang bermacam-macam, misalnya terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dapat menyebabkan

hemolisis dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir (Rasyidah, 2020).

Efek positif saponin jika ditinjau dari segi kesehatan dapat berfungsi sebagai antibakteri dan antivirus (Sudarmi dkk, 2017) sebagai antidiabetes (Makalalag dkk, 2013) sebagai anti inflamasi, analgesik, antifungi, sitotoksik (Gunawan, 2018) dan sebagai antioksidan (Bogoriani, 2015; Sudarmi dkk, 2017; Widiastini, 2021). Senyawa saponin mempunyai efek antioksidan dengan membentuk spesies reaktif seperti hidroperoksida dan superoksida sebagai antioksidan sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida dan mencegah kerusakan biomolekul oleh radikal bebas (Andrie & Ayunda, 2014; Gusungi, 2020; Widiastini dkk, 2021).

Saponin diklasifikasikan menjadi 2 kelompok yaitu: saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas molekul karbohidrat, dapat dihidrolisis menghasilkan saraponin yang digunakan sebagai anti jamur dan dapat berkonjugasi dengan asam glukoronida. Saponin dapat digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis obat kortikosteroid. Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Saponin jenis ini dapat dihidrolisis menghasilkan sapogenin. Sapogenin mudah dikristalkan melalui reaksi asetilasi sehingga dapat dimurnikan (Liem dkk, 2013; Hanani, 2015).

Pengambilan senyawa saponin dari berbagai tumbuhan dapat dilakukan menggunakan ekstraksi. Teknik ekstraksi konvensional yang dapat digunakan, seperti maserasi, soxhlet dan refluks. Selain itu, teknologi baru seperti ekstraksi gelombang ultrasonik (*Ultrasound Assisted Extraction*) dan ekstraksi pelarut yang dibantu gelombang mikro (*Microwave Assisted Extraction*) juga sudah banyak dilakukan saat ini (Cheok dkk, 2014).

6. Analisis Saponin

Beberapa metode telah digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur kadar saponin pada tanaman. Pengukuran yang biasa digunakan seperti Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Kolom, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Cheok dkk, 2014) Spektrofotometri UV-Vis dan metode gravimetri (Minarno, 2016; Mien dkk, 2015). Pada penelitian ini menggunakan metode gravimetri karena sangat sederhana dalam pengerjaannya yang didasarkan pada penimbangan berat konstan dari suatu senyawa setelah melakukan pelarutan sampel, penambahan pereaksi, penyaringan, pencucian, pengeringan dan penimbangan endapan hingga konstan (Pursitasari, 2014).

Gravimetri adalah pemeriksaan jumlah zat dengan cara penimbangan hasil reaksi pengendapan. Gravimetri merupakan pemeriksaan jumlah zat yang paling tua dan paling sederhana dibandingkan dengan cara pemeriksaan kimia lainnya. Kesederhanaan itu kelihatan karena dalam gravimetri jumlah zat ditentukan dengan cara menimbang langsung massa zat yang dipisahkan dari zat-zat lain (Rohmah & Chylen, 2020).

Pada pemisahan unsur atau senyawaan yang mengandungnya dapat dicapai dengan beberapa metode, antara lain pengendapan, metode penguapan atau pembebasan (gas), metode elektrolisis, dan metode ekstraksi dan kromatografi (Rohmah & Chylen, 2020).

Tahap pengukuran dalam metode gravimetri adalah penimbangan. Analitnya secara fisik dipisahkan dari semua komponen lain dari sampel itu maupun dari pelarutnya. Pengendapan merupakan teknik yang paling meluas penggunaannya untuk memisahkan analit dari pengganggu-penggangguannya (Rohmah & Chylen, 2020).

Secara umum tahapan yang dilakukan dalam analisis gravimetri dengan cara pengendapan adalah (Pursitasari, 2017) :

a. Pembentukan endapan

Endapan dibentuk dengan menambahkan pereaksi pengendap secara berlebih agar semua unsur atau senyawa dapat terendapkan dengan sempurna. Pengendapan dilakukan pada temperatur dan pH tertentu yang merupakan kondisi optimum reaksi pengendapan.

b. *Digest* (menumbuhkan kristal-kristal endapan).

Setelah terbentuk endapan, maka perlu dilakukan penyempurnaan endapan, yaitu dengan membiarkan larutan yang berisi endapan selama beberapa saat dalam penangas air atau *waterbath*.

c. Penyaringan endapan

Endapan yang dihasilkan dari suatu reaksi dapat dipisahkan melalui kertas saring, penyaring asbes atau penyaring lempeng berpori. Kertas saring yang digunakan biasanya terbuat dari selulosa yang sangat murni, sehingga saat dibakar akan bebas abu.

d. Pencucian

Pencucian endapan dilakukan untuk menghilangkan zat-zat yang mengganggu atau zat yang tidak dikehendaki. Pencucian dilakukan secara berulang kali dengan menggunakan cairan pencuci sedikit demi sedikit sampai ion pengotor hilang.

e. Pengeringan dan pemijaran endapan

Setelah endapan di cuci, maka endapan tersebut harus dikeringkan untuk menghilangkan air. Karena endapan yang dihasilkan masih mengandung air yang melekat pada permukaan.

f. Penimbangan endapan yang dilanjutkan dengan perhitungan kuantitas analit dalam sampel .

7. Antioksidan

a. Pengertian antioksidan

Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron atau elektron donor. Antioksidan bekerja dengan cara

mendonorkan satu elektron kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa dari oksidan dapat dihambat (Sayuti & Rina, 2015). Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam dan menangkal dampak negatif dari senyawa kimia dalam tubuh (Pratama dkk, 2015). Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang bekerja menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi (Nofita dkk, 2021). Secara ilmiah, senyawa antioksidan sangat besar peranannya pada manusia untuk mencegah terjadinya penyakit. Antioksidan melakukan semua itu dengan cara menekan kerusakan sel yang terjadi oleh proses oksidasi radikal bebas (Mahmuda, 2018).

b. Mekanisme kerja antioksidan

Mekanisme antoksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 macam mekanisme reaksi menurut (Sayuti & Yenrina, 2015) yaitu :

- 1) Pelepasan hidrogen dari antioksidan
- 2) Pelepasan elektron dari antioksidan
- 3) Penambahan lemak kedalam cincin aromatik pada antioksidan
- 4) Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimeriasi) atau dikenal dengan istilah *chain-breaking antioxidant* (Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2015).

Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas (*free radical*

scavenger). Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler (Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2015).

Secara alami sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, telah ada di dalam tubuh. Secara alami tubuh mampu menghasilkan antioksidan sendiri, akan tetapi kemampuan ini ada batasnya. Kemampuan tubuh memproduksi antioksidan alami dan semakin berkurang dengan bertambahnya usia (Sayuti & Yenrina, 2015).

c. Jenis antioksidan

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen ataupun endogen, tubuh manusia telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan. Secara umum antioksidan dibedakan menjadi 2, yaitu :

- 1) Antioksidan primer merupakan antioksidan utama pemberi atom hidrogen, karena bekerja secara cepat dalam memberikan atom hidrogen ke senyawa radikal, dimana radikal bebas yang terbentuk menghasilkan radikal antioksidan dan derivat lipid. Antioksidan primer ini berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas. Yang termasuk antioksidan primer, misalnya transferin, feritin dan albumin (Podungge dkk, 2018).
- 2) Antioksidan sekunder biasa disebut antioksidan non-enzimatis dan bekerja dengan cara menangkap dan memotong oksidasi radikal bebas sehingga tidak bereaksi dengan komponen seluler. Yang termasuk dalam antioksidan sekunder, misalnya *glutathion peroxidase* (GPx), *superoxide dismutase* (SOD), vitamin C, vitamin E dan karoten. (Firdaus, 2018).

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dikelompokkan menjadi tiga, yaitu :

- 1) Antioksidan endogen atau enzim antioksidan yang pada dasarnya merupakan antioksidan yang sudah di produksi di dalam tubuh

manusia seperti, enzim superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksida dan katalase.

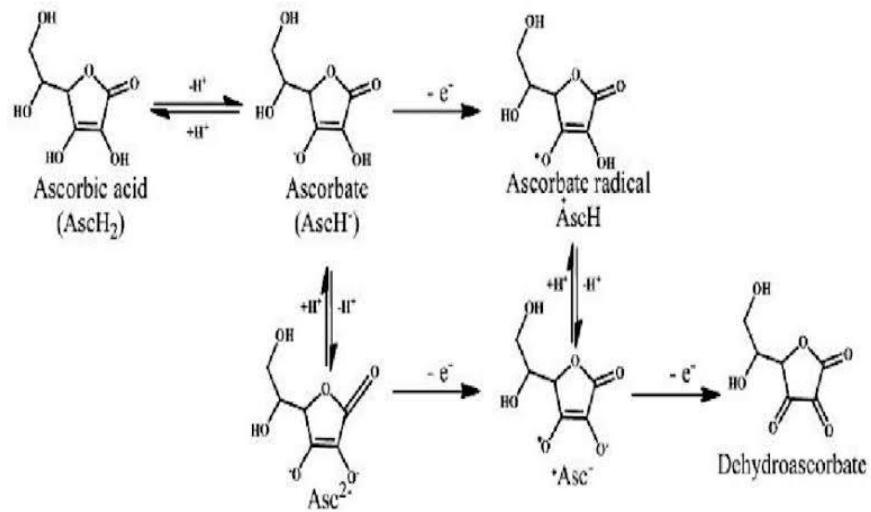
- 2) Antioksidan sintesis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti *Tert-Butil Hidroksi Quinon* (TBHQ), *Butil Hidroksi Anisol* (BHA) dan *Butil Hidroksi Toluena* (BHT).
- 3) Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari bagian tanaman seperti bunga, buah, akar, biji, kayu dan serbuk seperti vitamin C, vitamin A, vitamin E, senyawa fenolik, flavonoid, polifenol, tanin dan saponin (Parwata, 2016).

8. Asam Askorbat (Vitamin C)

Secara biokimia vitamin C (asam askorbat) adalah senyawa dengan rumus $C_6H_8O_6$ dengan struktur cincin lakton 6-karbon yang dapat disintesa dari glukosa dan hati hewan mamalia pada umumnya (Wijaya, 2014). Vitamin C bersifat sangat larut dalam air dan bentuk non ionik dapat menembus dan berakumulasi di kulit. Vitamin C dapat dihasilkan pada hampir semua tumbuhan dan hewan (Andarina & Tantawi, 2017).

Vitamin C disebut sebagai elektron donor (pemberi elektron) sehingga termasuk dalam senyawa antioksidan. Vitamin C dapat mencegah senyawa-senyawa lain mengalami oksidasi seperti vitamin E melalui pengaktifan kembali α -tokoferol dari radikal tokoferol dan bekerja secara sinergis dengan vitamin E untuk menstabilkan radikal peroksidasi lemak (Wijaya, 2014; Andarina & Tantawi, 2017).

Vitamin C dapat digunakan sebagai senyawa pembanding dalam melakukan analisis aktivitas antioksidan dikarenakan penggunaan antioksidan alami lebih bersifat aman dan tidak bersifat toksik. Jika dibandingkan dengan senyawa antioksidan yang lain, vitamin C berpotensi menjadi antioksidan yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat, bahkan lebih murah dan juga mudah didapat (Lung & Destiani, 2017).



Gambar 2.6 Mekanisme Aktivitas Penangkal Radikal Asam Askorbat (Nimse & Pal, 2015)

Vitamin C akan bermodifikasi menjadi radikal askorbat karena telah menyumbangkan elektron ke radikal lemak sehingga reaksi berantai peroksidasi lemak dapat terhenti. Radikal bebas yang bereaksi dengan vitamin C akan menghasilkan molekul askorbat dan molekul *dehydroascorbate*. *Dehydroascorbate* merupakan suatu senyawa yang tidak bersifat antioksidatif sehingga secara ilmiah akan diubah kembali menjadi askorbat melalui donor 2 elektron yang dilakukan oleh oksidoreduktase (Nimse & Pal, 2015).

9. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak saling berpasangan, bersifat tidak stabil dan sangat reaktif menarik molekul lain untuk mencapai stabilitas (Arnanda dan Rina, 2019). Sumber radikal bebas berasal dari faktor endogen dan eksogen (Zulaikhah, 2017).

a. Sumber endogen

Radikal bebas diperoleh dari proses metabolisme normal yang terjadi di dalam tubuh. Reaksi metabolisme menghasilkan lebih dari 90% oksigen yang berasal dari proses oksidasi makanan sehingga

diperoleh energi dalam mitokondria yang dikenal dengan rantai transpor elektron dan akan menghasilkan anion superoksida radikal bebas. Biasanya radikal bebas diproduksi oleh sel darah putih seperti neutrophil yang berfungsi sebagai pertahanan dalam menghancurkan patogen asing, reaksi oksidasi xanthine, reaksi zat besi dan logam lainnya, olahraga berlebihan, kelebihan oksigen, dan produksi energi yang membutuhkan oksigen. Namun ada beberapa oksigen yang justru membentuk radikal, peradangan, dan iskemik. Sumber endogen radikal bebas lainnya meliputi autoksidasi, oksidasi enzimatik, dan proses pernafasan (Zulaikhah, 2017).

b. Sumber eksogen

Radikal bebas juga dapat bersumber dari pencemaran lingkungan, radiasi, asap rokok, penipisan ozon, bahan kimia, obat, racun, alkohol, mikroorganisme patologis, anestesi dan pestisida yang digunakan untuk industri (Zulaikhah, 2017).

Radikal bebas yang berperan dalam proses biologis sebagian besar berasal dari proses biologis alami yang melibatkan prooksidan *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). Proses terbentuknya radikal bebas dimulai dengan molekul yang tidak memiliki pasangan elektron dan mencoba mengambil elektron lain yang berada disekitarnya. Proses ini merupakan proses oksidasi yang kemudian akan membentuk sebuah molekul radikal bebas yang baru. Proses ini jika berlangsung terus-menerus dapat membentuk sebuah rantai reaksi yang akan menghancurkan ribuan molekul lain. Radikal bebas dapat terbentuk dari hasil metabolisme ataupun yang memang sengaja dibentuk untuk menetralsasi virus dan bakteri pada sistem imunitas tubuh. Radikal bebas dibentuk oleh banyak mekanisme terutama oleh mekanisme oksidasi glukosa (Berawi & Theodora, 2017).

Glukosa akan dioksidasi melalui reaksi yang melibatkan logam menjadi anion enediol, kemudian diubah menjadi ketoaldehid dan O_2 . O_2^- (superoksida anion) mengalami dismutase menjadi H_2O_2 yang tidak dapat didegradasi oleh katalase atau glutathione peroksida sehingga menghasilkan $OH\bullet$ yang sangat reaktif. Anion superoksida dapat bereaksi dengan NO membentuk molekul reaktif peroxynitrite (ONOO⁻). Produksi ROS dan/atau RNS yang berlebihan dapat mengakibatkan stress oksidatif. *Reactive oxygen species* dalam tubuh mempunyai berbagai macam bentuk yaitu superoksida anion (O_2^-), radikal hidroksil (HO), lipid (R), dan peroksida lainnya seperti ROO dan XO (Berawi & Theodora, 2017).

Ketika radikal bebas diproduksi dalam jumlah berlebih maka antioksidan endogen dan eksogen tidak dapat menetralkannya. Oleh karena itu, kondisi ini akan menyebabkan stres oksidatif. Kondisi ini memiliki berbagai efek degeneratif pada membran sel, DNA, dan lain-lain. Kerusakan pada protein akibat radikal bebas dapat mempengaruhi aktivitas enzimatik. Stres oksidatif ini juga dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker tertentu, kardiovaskular, gangguan neurodegeneratif, diabetes mellitus, penuaan, aterosklerosis, peradangan, gangguan mata dan komplikasi janin (Dhaliwal & Singh, 2015).

10. Metode Pengukuran Antioksidan

Beragam metode pengukuran telah dikembangkan untuk mengukur aktivitas antioksidan, tetapi tidak ada yang benar-benar ideal. Metode pengukuran aktivitas antioksidan akan mendeteksi karakteristik yang berbeda dari antioksidan dalam sampel, hal ini menjelaskan mengapa metode pengukuran aktivitas antioksidan yang berbeda akan mengacu pada pengamatan mekanisme kerja antioksidan yang berbeda pula (Maryam dkk, 2015).

Penentuan aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), ABTS (TEAC) dan 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (Kurniasih dkk, 2015; Yefrida dkk, 2015).

a. FRAP

Metode FRAP adalah salah satu metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan. Metode ini dapat menentukan kadar antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Maryam dkk, 2015).

Prinsip dari uji FRAP adalah reaksi transfer electron dari antioksidan ke senyawa Fe^{3+} TPTZ. Senyawa Fe^{3+} TPTZ sendiri mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan, cukup sederhana dan cepat (Maryam dkk, 2015).

b. ORAC

Metode ORAC menggunakan senyawa radikal peroksil yang dihasilkan melalui larutan cair dari *2,2-azobis-2-metil-propanimidamida*. Antioksidan akan bereaksi dengan radikal peroksil dan menghambat degradasi pendaran zat warna. Kelebihan metode pengujian ORAC adalah kemampuannya dalam menguji antioksidan hipofilik dan lipofilik sehingga akan menghasilkan pengukuran lebih baik terhadap total aktivitas antioksidan. Kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan peralatan yang mahal dan hanya sensitive terhadap penghambatan radikal peroksil (Kurniasih dkk, 2015).

c. ABTS

Pengujian antioksidan juga dapat dilakukan dengan menggunakan metode ABTS (*2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid*) yang merupakan senyawa radikal yang mengandung atom nitrogen. Prinsip pengujiannya adalah penyetabilan radikal bebas melalui donor proton. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan penghilangan warna ABTS yang semula berwarna biru hijau akan berubah menjadi tidak berwarna apabila tereduksi oleh radikal bebas. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 734. Hasil yang di dapat dibandingkan dengan larutan standar Trolox yang merupakan antioksidan analog tokoferol (Wulansari, 2018).

Metode ABTS memiliki keunggulan yaitu memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang visible dan waktu reaksi yang leboh cepat. Selain itu, ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organic maupun air sehingga bisa mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik. Namun, pengujian menggunakan ABTS tidak menggambarkan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas, sehingga ABTS hanya dapat dijadikan sebagai metode pembanding karena tidak mewakili sistem biologis tubuh (Wulansari, 2018).

d. CUPRAC

Metode CUPRAC juga merupakan salah satu pengujian antioksidan untuk melihat daya antioksidan dari senyawa-senyawa polifenol dan vitamin E yang dikenal mudah untuk dilakukan dan berbiaya rendah. Metode ini menggunakan reagen *copper(II)-neocuproine* (Cu(II)-Nc). Metode ini dapat juga digunakan untuk mengetahui kapasitas antioksidan senyawa-senyawa fenolik (Nugraha dkk, 2017).

Antioksidan standar atau ekstrak dicampur dengan CuSO₄ dan neocuproine. Setelah 30 menit, absorbansi diukur pada 450nm. Dalam

pengujian, Cu (II) direduksi menjadi Cu (I) melalui aksi antioksidan penyumbang elektron. Hasilnya dinyatakan dalam miligram Trolox per liter ekstrak (Nugraha dkk, 2017).

e. DPPH

Metode DPPH merupakan salah satu pengujian untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas DPPH (Kurniasih, dkk. 2015). *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) (C₁₈H₁₂N₅O₆) ialah senyawa radikal bebas yang bersifat stabil sehingga sering digunakan dalam menentukan aktivitas antioksidan sebagai larutan pereaksi (Tristantini dkk, 2016). Metode DPPH dipilih karena pengujiannya sederhana, mudah, cepat, peka, hanya memerlukan sedikit sampel, waktu pengujian yang singkat, dan praktis serta sensitif untuk menganalisis aktivitas antioksidan pada suatu bahan alam atau ekstrak tanaman (Haeria dkk, 2018; Indra dkk, 2019). Kemampuan penangkapan radikal berhubungan dengan kemampuan komponen senyawa dalam menyumbangkan elektron atau hidrogen. Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dan akan memudahkan DPPH (Kurniasih dkk, 2015).

Dalam metode ini hanya digunakan senyawa DPPH sebagai pereaksi dan senyawa pembanding seperti vitamin C. Pengamatan pada metode ini ditandai dengan perubahan larutan ungu menjadi kuning. Hal ini menandakan DPPH telah mengalami reduksi oleh suatu proses donor hidrogen dari senyawa antioksidan. (Lung & Destiani, 2017).

Adanya peredaman warna yang mulanya berwarna ungu berubah menjadi warna kuning yang terjadi pada radikal DPPH disebabkan karena terdapat senyawa antioksidan yang mampu mendonorkan atom hidrogen terhadap radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan terjadi proses reduksi menghasilkan molekul

DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) suatu molekul yang stabil (Tristantini dkk, 2016).

Metode DPPH merupakan metode pengujian dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penggunaan metode spektroskopi ini sudah divalidasi dengan pengukuran beberapa antiradikal bebas yang umum seperti tokoferol, vitamin C, pinocembrin, dan skualen yang memberikan hasil yang signifikan dengan uji antiradikal bebas yang lain. Keaktifan dari golongan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antiradikal bebas ditentukan oleh gugus fungsi –OH (hidroksil) bebas dan ikatan rangkap karbon-karbon seperti flavon, skualen, tokoferol, β -karoten, vitamin C dan lain-lain (Parwata. 2016).

11. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan (Suarsa, 2015).

Spektrofotometer UV-Vis merupakan rangkaian alat yang sangat beragam mulai dari manual spektronik sampai yang digital atau yang dihubungkan dengan peralatan komputer. Spektrofotometer UV disatukan dengan Visible (sinar tampak), sehingga pemakaiannya dapat disesuaikan. Secara umum komponen-komponen spektrofotometer baik yang sinar tunggal maupun yang sinar ganda yaitu sumber radiasi (cahaya), monokromator, sel atau tempat sampel dan detektor. Detektor inilah yang dihubungkan dengan rangkaian alat komputer (Ramlah, 2017).

Spektrofotometri dirancang untuk mengukur konsentrasi yang ada dalam suatu sampel, dimana molekul yang ada dalam sel sampel disinari dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Ketika cahaya

mengenai sampel, sebagian akan diserap, sebagian akan dihamburkan dan sebagian lagi akan diteruskan. Pada spektrofotometri, cahaya datang atau cahaya masuk atau cahaya yang mengenai permukaan zat dan cahaya setelah melewati zat tidak dapat diukur, yang dapat diukur adalah transmittansi atau absorbansi. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang dihamburkan diukur sebagai transmittansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert – beer atau hukum Beer yang berbunyi, “jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, cahaya merah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat atau tebal larutan (Neldawati & Gusnedi, 2013).

Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 (Suarsa, 2015).

Penyerapan sinar ultraviolet (UV) dan tampak (Visible) oleh suatu senyawa dibatasi pada sejumlah gugus fungsi yang mengandung elektron valensi dengan tingkat eksitasi yang rendah dengan melibatkan tiga jenis elektron yaitu sigma, phi, dan nonbonding elektron (Angraini, 2013).

Bagian-bagian dari alat Spektrofotometer UV-Vis menurut Suarsa, 2015 :

a. Sumber cahaya :

- 1) Lampu Tungsten (Wolfram) : Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak. Bentuk lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa. Memiliki panjang gelombang antara 350-2200 nm. Spektrum radiasinya berupa garis lengkung. Umumnya memiliki waktu 1000 jam pemakaian.
- 2) Lampu Deuterium : Lampu ini dipakai pada panjang gelombang 190-380 nm. Spektrum energi radiasinya lurus, dan digunakan

untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah uv. Memiliki waktu 500 jam pemakaian.

b. Monokromator

Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Jenis monokromator yang saat ini banyak digunakan adalah grating atau lensa prisma dan filter optik. Jika digunakan grating maka cahaya akan dirubah menjadi spektrum cahaya. Sedangkan filter optik berupa lensa berwarna sehingga cahaya yang diteruskan sesuai dengan warna lensa yang dikenai cahaya. Ada banyak lensa warna dalam satu alat yang digunakan sesuai dengan jenis pemeriksaan. Monokromator, terdiri atas :

- 1) Prisma, berfungsi mendispersikan radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya di dapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.
- 2) Kisi difraksi, berfungsi menghasilkan penyebaran dispersi sinar secara merata, dengan pendispersi yang sama, hasil dispersi akan lebih baik. Selain itu kisi difraksi dapat digunakan dalam seluruh jangkauan spektrum.
- 3) Celah optis, berfungsi untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diharapkan dari sumber radiasi. Apabila celah berada pada posisi yang tepat, maka radiasi akan dirotasikan melalui prisma, sehingga diperoleh panjang gelombang yang diharapkan.
- 4) Filter, berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan panjang gelombang yang dipilih.

c. Tempat sampel

Spektrofotometer UV-VIS menggunakan kuvet sebagai wadah sampel yang akan dianalisis. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau

gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Cuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.

Kuvet yang baik harus memenuhi beberapa syarat sebagai berikut :

- 1) Permukaannya harus sejajar secara optis
- 2) Tidak berwarna sehingga semua cahaya dapat di transmisikan
- 3) Tidak ikut bereaksi terhadap bahan-bahan kimia
- 4) Tidak rapuh
- 5) Bentuknya sederhana.

d. Detektor

Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Macam-macam detektor yang biasa digunakan:

- 1) Phototube dengan jangkauan panjang gelombang (λ) 150–1000 nm
- 2) Photomultiplier dengan jangkauan panjang gelombang (λ) 150-1000 nm

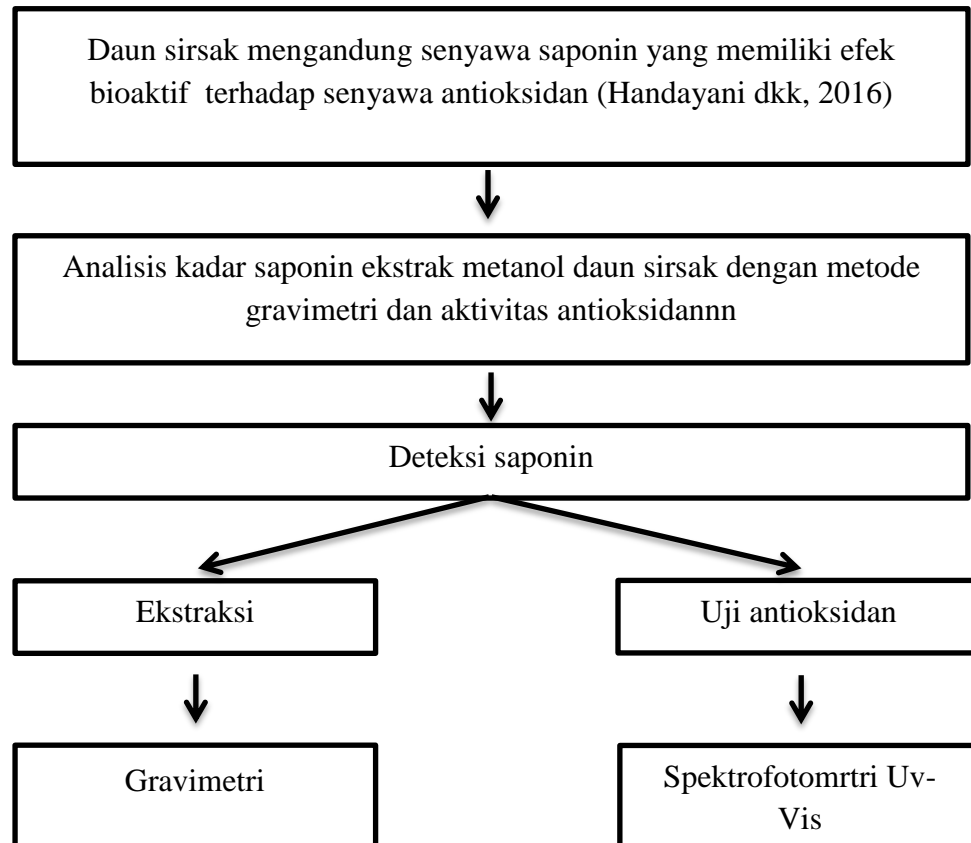
Syarat-syarat sebuah detektor :

- 1) Kepekaan yang tinggi
- 2) Perbandingan isyarat atau signal dengan bising tinggi
- 3) Respon konstan pada berbagai panjang gelombang.
- 4) Waktu respon cepat dan signal minimum tanpa radiasi.
- 5) Signal listrik yang dihasilkan harus sebanding dengan tenaga radiasi.

e. *Read out*

merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector.

B. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.7 Kerangka Konsep

C. Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep penelitian, maka diperoleh hipotesis sebagai berikut :

H_0 : Daun sirsak mengandung saponin yang memiliki aktivitas antioksidan.

H_1 : Daun sirsak tidak mengandung saponin serta tidak memiliki aktiitas antioksidan.