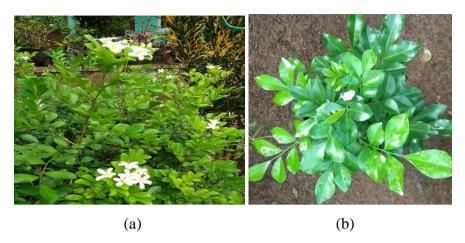
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA



Gambar II.1. Gambar tanaman Kemuning (*Murraya Paniculata* (L.) Jack) (dokumentasi pribadi)

Keterangan; (a) Kemuning jepang (b) kemuning lokal

2.1. Kemuning

Kemuning (*Murraya paniculata* (L). Jack) merupakan tumbuhan yang tumbuh di daerah tropis berbentuk pohon dan dapat tumbuh setinggi 3-7 meter. Tumbuhan ini memiliki batang berkayu. Daun majemuk memiliki 4-7 anak daun, permukaan daun cukup halus, ujung dan pangkal daun runcing, tepi daun rata, urat daun menyirip, dan warnanya hijau. Tanaman ini memiliki bunga dan buah berwarna putih yang akan berubah menjadi merah saat matang dan berdiameter sekitar 1 cm (Permenkes RI, 2016).

Berikut spesifikasi tanaman kemuning: (Feng-Juan et al, 2021)

Divisi : Spermatophyta Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Sapindales
Famili : Rutaceae
Genus : Murraya

Species : Murraya paniculata (L.) Jack

Secara geografis, kemuning berasal dari daratan India, Asia Selatan. Kemuning tumbuh dengan tinggi maksimal mencapai 7 meter. Selain tumbuh liar di semak belukar, kemuning juga ditanam sebagian orang sebagai tanaman hias.

2.1.1. Kandungan senyawa daun kemuning

Senyawa yang terkandung dalam daun kemuning adalah flavonoid, kumarin, alkaloid, yang berperan sebagai antioksidan kuat (Menezes *et al.*, 2014). Flavonoid yang terkandung dalam kemuning sebagian besar adalah flavon (Sayar *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan senyawa fenolik terbesar yang ditemukan di alam dan metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan. Metabolit sekunder pada tumbuhan diketahui memiliki efek farmakologi seperti antioksidan, sitotoksik, antibakteri, dan antivirus (Hassanein *et al.*, 2015). Alkaloid adalah kelompok senyawa basa nitrogen terutama heterosiklik yang juga ditemukan pada tanaman. Hampir semua alkaloid berasal dari tanaman dan banyak terdapat pada berbagai jenis tanaman. Alkaloid memiliki efek antioksidan karena strukturnya mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas yang mengurangi aktivitas radikal bebas dalam tubuh (Puspitasari *et al.*, 2018).

Kumarin merupakan senyawa fenolik yang umumnya berasal dari tumbuhan tingkat tinggi dan jarang ditemukan pada mikroorganisme. Senyawa kumarin diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, hipoalergenik, antitrombotik, antivirus, dan antikanker. Kumarin berduri dan memiliki bau yang menyenangkan (Zainol *et al.*, 2019).

2.1.2. Manfaat kemuning

Daun kemuning telah terbukti secara ilmiah aman dan memiliki manfaat kesehatan yang sangat baik seperti mengatasi hambatan gizi seperti obesitas (Kemenkes RI, 2016). Daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) juga memiliki khasiat sebagai antiradang, antipiretik, obesitas, bisul, eksim, infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernafasan, diare, disentri dan penyakit menular lainnya serta bersifat antioksidan (Gautam *et al.*, 2012).

2.2. Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang tidak stabil (Phaniendra *et al.*, 2015). Polusi udara adalah salah satu media di mana seseorang terpapar radikal bebas. Oksigen yang dihirup terus diubah oleh sel-sel tubuh menjadi senyawa yang sangat reaktif yang disebut senyawa oksigen reaktif (SOR).

Sebagian besar SOR berasal dari proses fisiologis (SOR endogen) dan SOR eksogen, seperti berbagai pencemaran lingkungan (asap kendaraan bermotor, industri, asap rokok, dll), radiasi pengion, infeksi bakteri, jamur dan virus, dan paparan bahan kimia (termasuk obat-obatan) yang mengoksidasi. Ada dua bentuk SOR, agresif dan non-agresif. Contoh bentuk radikal bebas adalah anion superoksida, hidroksil, peroksida, dan sejenisnya. Sedangkan bentuk non radikal seperti hidrogen peroksida, oksigen singlet, dan hipoklorit (Ari *et al.*, 2009).

SOR penting untuk kesehatan fisik dan fungsi normal pada pengobatan radang, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos di pembuluh darah serta organ dalam tubuh. Tetapi, jika output melebihi batas perlindungan antioksidan seluler, SOR menyerang sel-sel di dalam sendi. Struktur seluler yang berubah dapat mengubah fungsinya, yang akan menyebabkan munculnya proses penyakit. Kondisi ini biasa disebut sebagai stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dalam tubuh dengan sistem pertahanan antioksidan (Puspitasari *et al.*, 2016).

Kerusakan oksidatif lain dapat terjadi karena dampak dari kondisi stres oksidatif, misalnya pada sel, jaringan, dan organ. Selanjutnya, kondisi ini menjadi penyebab terjadinya proses penuaan dan timbulnya penyakit kurang lebih 50 penyakit yang diduga berkaitan dengan atvitas radikal bebas, seperti stroke, asma, diabetes mellitus, radang usus, peryumbatan kronis pernbuluh darah di jantung, hingga ke syaraf. Selain itu penuaan juga dapat disebabkan oleh radikal bebas (Ari *et al.*, 2009).

2.3. Antioksidan

Antioksidan merupakan zat yang melindungi tubuh dengan menangkap radikal bebas. Antioksidan adalah molekul yang menghambat oksidasi molekul lain. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang struktur molekulnya dapat mendonorkan elektron kepada radikal bebas dan dapat mengganggu reaksi berantai dari radikal bebas. Ada tiga jenis antioksidan, yaitu:

- a. antioksidan endogen, antioksidan dalam bentuk enzim diantaranya superoksida dismutase, glutation peroksidase, dan katalase.
- b. Antioksidan bahan alami yakni antioksidan yang dapat didapatkan dari tanaman atau hewan yaitu tokoferol, asam ascorbate, flavonoid dan senyawa fenolik.
- c. Antioksidan sintetik, yakni antioksidan yang dibuat dari bahan-bahan kimia, yaitu Beta Hydroxy Acid (BHA), BHT, TBHQ, PG dan NDGA yang ditambahkan

dalammakanan untuk mencegah kerusakan lemak. Berdasarkan fungsinya, antioksidandapat dibedakan menjadi 5 (lima), yakni:

1. Antioksidan Primer

Antioksidan yang berfungsi untuk mencegah munculnya radikal bebas baru dengan cara mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul negatif yang sebelumnya belum sempat bereaksi.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan yang fungsinya untuk menangkap radikal bebas dan mencegah munculnya rantai reaksi sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih banyak. Contohnya adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan berfungsi untuk memperbaiki sak karena serangan radikal sel sel dan bebas.

4. Oxygen Scavanger

Antioksidan oxygen berfungsi untuk mengikat oksigen sehingga tidak membantu reaksi oksidasi. Misalnya vitamin C.

5. Chelators/Sequesstrants

Antioksidan chelator berfungsi untuk mengikat logam, yang berguna sebagai katalis redoks. Contohnya asam sitrat dan asam amino.

2.3.1. Peran Antioksidan bagi Kesehatan

Antioksidan begitu penting untuk kesehatan manusia dikarenakan fungsinya yang mampu menghambat serta menetralkan reaksi oksidatif yang melibatkan radikal bebas. Mekanisme penghambatan oleh antioksidan ini biasa terjadi selama inisiasi atau propagasi oksidasi oleh lemak atau molekul lain di dalam tubuh melalui penyerapan dan netralisasi radikal bebas. Netralisasi ini dilakukan dengan mendonorkan elektron sampai menjadi senyawa yang lebih stabil atau terjadi reaksi terminasi dan reaksi radikal bebas berakhir atau tidak terjadi stres oksidatif di dalam sel. Selain mencegah atau menghambat stres oksidatif dan kerusakan jaringan, antioksidan seperti vitamin E juga berperan penting dalam menghambat peningkatan produksi sitokin (Ari *et al.*, 2009).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah pengambilan metabolit sekunder dengan tujuan memisahkannya dari bagian biomassa atau limbah yang tidak diinginkan atau mengganggu penyajian karena mengganggu kerja bahan aktif. Ada beberapa metode ekstraksi bahan dari metode yang paling sederhana dan tua hingga metode modern. Metode dipilih berdasarkan pada berbagai alasan seperti sifat bahan, stabilitas metabolit sekunder, hasil dan kualitas yang dibutuhkan, serta pertimbangan biaya dan waktu. (Agung, 2017)

2.4.1. Tujuan Ekstraksi

Pembuatan ekstrak bertujuan untuk mengekstraksi komponen kimia yang ada dalam bahan alam. Zat aktif seperti senyawa antibakteri dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan sering diekstraksi oleh pelarut. Dalam proses ekstraksi pelarut, jumlah dan macam-macam senyawa yang masuk ke dalam pelarut cair sangat berkaitan pada jenis pelarut yang digunakan, dan meliputi dua tahap yaitu tahap pencucian dan tahap ekstraksi. (Agung,2017).

2.4.2. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi

Berikut adalah beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi (Ubay, 2011):

1. Jenis pelarut

Jenis pelarut dapat mempengaruhi senyawa yang diekstraksi, jumlah zat terlarut yang diekstraksi, dan kecepatan ekstraksi.

2. Suhu

Secara umum, peningkatan suhu meningkatkan jumlah zat terlarut dalam pelarut.

3. Proporsi pelarut dan bahan baku

Jika rasio pelarut terhadap bahan baku besar, jumlah senyawa terlarut juga akan meningkat. Akibatnya, tingkat ekstraksi akan meningkat.

4. Perincian

Ketika ukuran partikel bahan baku menjadi lebih kecil, laju ekstraksi juga meningkat.

5. Pengadukan

Fungsi pengadukan adalah untuk mempercepat reaksi pelarut dan zat terlarut.

6. Durasi

Semakin lama waktu ekstraksi, semakin banyak ekstrak yang dihasilkan karena zat terlarut kontak dengan pelarut lebih lama.

2.5. Prinsip ekstraksi

Prinsipnya ekstraksi diawali dengan proses pembelahan jaringan atau dinding sel yang diberi perlakuan panas, kemudian dilanjutkan oleh pengambilan senyawa target dengan pelarut organik yang tepat, prinsip ini didasarkan pada kedekatan sifat kepolaran dari senyawa dan pelarut (Agung, 2017).

2.5.1. Ekstraksi cara dingin

2.5.1.1. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling sederhana dan tertua. Namun, metode tersebut masih digunakan karena keunggulan biaya rendah, alat sederhana, dan tidak memerlukan perlakuan panas, sehingga menjadi pilihan yang tepat untuk ekstraksi senyawa yang labil terhadap panas.



Gambar II.2. Ekstraksi metode maserasi (Agung,2017)

Prosedur perendaman adalah merendam bahan baku yang telah disiapkan (dikeringkan dan digiling) ke dalam pelarut yang sesuai dalam wadah, dan letakkan pada suhu kamar dan tunggu beberapa saat, seperti terlihat pada Gambar II.2 di atas.

2.5.1.2. Perkolasi

Kesamaan perkolasi dan maserasi adalah bahwa keduanya tidak menjalani perlakuan panas selama proses ekstraksi. Perkolator merupakan alat utama dalam proses ekstraksi perkolasi (Gambar II.3) yaitu bejana berbentuk silinder atau kerucut terbalik yang dilengkapi dengan lubang atau katup pada ujung bawahnya. Proses diafiltrasi didasarkan pada matriks bahan atau sampel yang disiapkan dalam perkolator untuk mengalirkan pelarut agar metabolit terlarut dalam bahan yang akan diekstraksi sehingga metabolit terkandung dalam pelarut dan mengalir keluar dari bejana. untuk ditampung.



Gambar II.3. ekstraksi metode perkolasi (Agung, 2017)

Proses ini dapat diulang berkali-kali hingga dirasakan tidak efisien, karena metabolit yang dihasilkan sedikit, yang terlihat pada perubahan warna ekstrak atau pada hasil uji terdeteksi dengan bahan kimia (reagen) tertentu. Dan tentukan apakah senyawa tersebut masih terlibat. (Agung, 2017).

2.5.2. Ekstraksi cara panas

2.5.2.1. Reflux

Ekstraksi refluks adalah metode ekstraksi yang paling banyak digunakan. Metode ini dianggap sebagai metode yang murah dan sederhana dengan hasil yang cukup tinggi. Cara kerjanya adalah dengan memutar terus menerus para pelaut (resirkulasi). Dalam metode ini, bahan yang akan diekstraksi dicelupkan ke dalam pelarut di dalam labu yang biasanya berbentuk bulat, yang kemudian ditempatkan di dalam pemanas. Bagian atas labu memiliki lubang yang menghubungkan langsung ke kondensor. Lubang pada wadah digunakan untuk akses dan pembuangan bahan, pelarut dan ekstrak. Gambar II.4 menunjukkan proses ekstraksi menggunakan reflow pada hot plate sebagai sumber panas.



Gambar II.4. ekstraksi metode reflux (sumber dokumentasi pribadi)

Pelarut akan mendidih dan menguap pada saat proses pemanasan. Kondisi ini pelarut yang panas dapat merusak jaringan dan dinding sel yang selanjutnya akan terjadi penetrasi ke bagian dalam sel dan melarutkan senyawa metabolit kemudian terlarut bersama pelarut (Agung, 2017).

2.5.2.1. Soxhlet

Metode yang sangat banyak digunakan karena tingkat kemudahan dan kenyamanannya yaitu dengan ekstraksi metode soxhlet. Prinsip ekstraksi ini adalah dengan mengekstrak bahan yang sudah dihaluskan dan dibungkus pada selembar kertas saring yang selanjutnya akan dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang sebelumnya telah ditempatkan pelarut pada labu soxhlet yang berada di bagian bawah (Gambar II.5). Dibawah ini labu soxhlet ditempatkan disebuah *heating mantle* atau *hot plate* untuk memanaskan labu soxhlet.



Gambar II.5. ekstraksi metode Soxhlet (Agung, 2017)

Ketika Soxhlet dipanaskan, pelarut di dalam labu Soxhlet akan menguap dan mengembun lagi karena sistem pendingin di bagian atas (kondensasi), sehingga mencairkannya kembali dengan terlebih dahulu menuangkan dan merendam bahan di dalam kemasan kertas saring. Hasilnya pelarut akan mengekstrak bahan/sampel dan melarutkan senyawa metabolik. Setelah beberapa waktu, ekstrak mencapai volume tertentu, dan menggunakan mekanisme ekstraksi Soxhlet, larutan dimasukan ke dalam labu Soxhlet. Pada saat yang sama, labu menjadi panas, sehingga larutannya menguap lagi, meninggalkan ekstrak di dalam labu, dan hanya pelarut yang menguap lagi, berkonsentrasi lagi. Proses ini terjadi secara terus menerus, hingga sampel terkena efek mekanik dan kimia dari pelarut yang memungkinkan proses ekstraksi berjalan lebih cepat dan lebih efisien. (Agung, 2017).

2.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah metode yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen. Pemisahan campuran komponen didasarkan pada distribusi komponen dalam fase gerak dan fase diam. Kromatografi lapis tipis umumnya digunakan untuk analisis kualitatif. Sistem KLT terdiri dari fase diam dan fase gerak.

Prinsip KLT adalah distribusi senyawa antara fase diam dalam bentuk padat yang diletakkan di atas piring kaca atau plastik dan fase gerak dalam bentuk cair yang bergerak di atas fase diam (Kumar, et al., 2013).

2.7. **DPPH**

DPPH merupakan metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dari berbagai senyawa atau ekstrak bahan alam. Antioksidan berinteraksi dengan DPPH melalui transfer elektron atau radikal hidrogen dalam DPPH, yang akan menetralisir sifat radikal bebas dari DPPH (Yu, 2008). Dengan atom hidrogen dalam senyawa peredaman radikal untuk membentuk DPPH yang lebih stabil. Metode DPPH bekerja dengan menggabungkan atom hidrogen dalam senyawa antioksidan dengan elektron bebas dalam senyawa radikal, sehingga terjadi transformasi radikal bebas (diphenylpicrylhydrazine) menjadi senyawa non-radikal (diphenylpicrylhydrazine).