

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tanaman Katuk (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab, & N.P. Balakr).

Katuk dapat ditemui hampir diseluruh pulau Indonesia yaitu, jawa, Kalimantan, Sumatera, Maluku dan kepulauan sumba. Didaerah jawa katuk telah banyak dikembangkan secara komersial meskipun masih menggunakan cara yang sederhana, dan didaerah lainnya ditanam sebagai pembatas kebun, tanaman sela dan tanaman pagar. Di dalam daun katuk kaya akan nutrisi dan metabolit sekunder, sehingga katuk dapat digunakan sebagai sayuran maupun sebagai obat herbal (Santoso, 2013).



Gambar II.1.1. Tanaman katuk, daun (A); seluruh tanaman (B); bunga (C); dan buah (D) (Zhang, dkk., 2020).

2.1.1. Klasifikasi

Kingdom : Plantae
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Malpighiales
 Famili : phyllanthaceae
 Genus : *Breynia*
 Spesies : *Breynia androgyna*

Sinonim nama ilmiah : *Sauropus androgynus* (L) Merr

2.1.2. Nama Lain

Dibeberapa Negara tanaman ini dikenali sebagai binahian di Filipina, cekur manis di Malaysia, dan ngub di Kamboja. Masyarakat Indonesia memiliki banyak sebutan untuk tanaman katuk yaitu simani di Minangkabau, katuk di Bengkulu, kayu manis di Bali, babing, katukan, katu di Jawa, kerakur di Madura, dan katuk di Sunda (Santoso, 2013).

2.1.3. Morfologi Tanaman

Tanaman ini berupa tanaman perdu, dengan ketinggian sekitar 2-5 m. Batang tanaman katuk memiliki ciri berkayu tegak dan berbentuk bulat, serta memiliki cabang yang agak lunak. Batang muda tanaman katuk berwarna hijau, sedangkan setelah menua akan berwarna coklat

agak kehijauan. Daunnya berbentuk tunggal dan tersusun selang-seling pada cabang yang menyerupai tangkai serta terlihat seperti bentuk bulat telur berujung runcing dan pangkalnya tumpul. Daunnya berukuran panjang sekitar 1,5-6 cm dan lebar 1-3,5 cm, dengan tulang daun menyirip, dan batangnya pendek serta berwarna hijau. Bunganya juga tersusun menjadi bentuk payung, terletak di ketiak daun. Mahkota bunga berbentuk oval dan ungu dengan tiga kepala sari berbentuk ginjal. Benang sari ungu, berjumlah satu atau lebih, panjangnya sekitar 510 mm, sebagai tempat menumpangnya bakal biji. Buah dari tanaman katuk berbentuk bulat, berdiameter sekitar 1,5 mm, dan memiliki tiga bilik berwarna hijau keputihan. Bijinya berbentuk bulat. Setiap buah mengandung sekitar tiga biji putih keras. Akarnya menunggang seperti kuda, dan warnanya putih kotor. Secara tradisional, tanaman katuk dipanen saat berumur 2-2,5 bulan setelah ditanam. Hasil panen sekitar 3-7 ton/ha. Dapat dipangkas setiap 40-60 hari atau saat tingginya mencapai 50-60 cm untuk mendapatkan daun yang muda serta segar (Azhari dan Teuku, 2010).

2.1.4. Kandungan Kimia

Pada skrining awal yaitu fitokimia ekstrak etanol katuk didapatkan positif memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin dan polifenol, flavonoid, glikosida, saponin, dan triterpenoid (Susanti, dkk., 2014). Daun katuk juga dikenal sebagai sayuran yang kaya akan nutrisi dan zat metabolit sekunder, sehingga tanaman katuk dapat digunakan untuk diolah menjadi sayur serta obat herbal.

Di dalam buku katuk, tumbuhan multi khasiat yang dibuat oleh (Santoso, 2013) tertulis bahwa daun katuk segar memiliki kandungan seperti energi 59 kalori, Protein 6,4 gram, lemak 1,6 gram, karbohidrat 9,9 gram, serat 1,5 gram, Abu 1,7 gram, kalsium 233 mg, fosfor 98 mg, besi 3,5 mg, β -karotin 10020 μ g, vitamin C 164 mg, dan Air 81 gram. Selain itu daun katuk juga kaya akan kandungan vitamin dan provitamin seperti all-trans- α -carotene (μ g/100g) 1335, all-trans- β -carotene (μ g/100g) 10010, cis- β -carotene (μ g/100g) 1312, Riboflavin (mg/100 g) 0,21, thiamin (mg/100 g) 0,50, vitamin C (mg/100 g) 244, a-tokoferol (mg/kg) 426.

2.1.5. Penggunaan Tradisional

Tanaman katuk dikenal karena kandungan vitamin dan nutrisinya yang tinggi. Sayuran ini biasanya dimakan mentah dalam salad, tumis, kari atau sup di sebagian besar negara di Asia Tenggara. Selain itu, katuk dipercaya dapat meningkatkan ASI pada wanita Indonesia dan Malaysia. Di Indonesia sendiri, biasanya mengonsumsi katuk dengan menjadikannya sebagai sayur atau lalap. Masyarakat Thailand juga secara tradisional menggunakan akar tanaman ini untuk menurunkan demam, mengobati keracunan makanan, dan digunakan sebagai pengawet. Orang Taiwan percaya bahwa katuk memiliki potensi besar sebagai agen penurun berat badan melawan obesitas, bahan tersebut dikonsumsi dalam bentuk jus. Di India, daun tanaman ini digunakan sebagai antidiabetes dan meningkatkan penglihatan (Azhari dan Teuku, 2010; Bunawan, dkk., 2015).

Selain bermanfaat untuk manusia, ternyata tanaman katuk juga memberikan manfaat kesehatan dan meningkatkan produksi ASI pada hewan. Banyak peneliti telah mengamati efek pemberian daun katuk pada produksi susu pada tikus. Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok tikus yang diberikan infusa ekstrak daun katuk meningkat produksi susu secara signifikan. Kemungkinan, efek pemberian ekstrak dari daun katuk dapat meningkatkan kuantitas susu di setiap lobus kelenjar susu tikus. Sementara itu, pada penelitian lain menggunakan burung merpati, ditemukan bahwa penyuntikan akar tanaman katuk dapat memberikan efek antipiretik dan diuretik pada burung merpati (Azhari dan Teuku, 2010)

2.1.6. Tinjauan Farmakologi

Aktivitas farmakologi yang dimiliki tanaman katuk berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya seperti alkaloid, triterpenoid, tanin dan polifenol, flavonoid, glikosida, dan saponin (Susanti, dkk., 2014). Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman katuk, didapatkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas farmakologi seperti antidiabetes, antioksidan, anti obesitas, antiinflamasi, induksi laktasi dan antibakteri (Bunawan, dkk., 2015)

Sebuah Studi yang dikerjakan oleh oleh (Nurdianti, 2017), Diketahui bahwa ekstrak etanol dari daun katuk yang di ditetapkan dengan menggunakan metode uji DPPH mempunyai nilai IC_{50} sebesar 32,04 ppm yang dapat dikategorikan sebagai aktivitas antioksidan sangat kuat. Studi terbaru membuktikan bahwa katuk sebagai tanaman obat tradisional yang dapat memperlancar ASI, terbukti bermanfaat sebagai antioksidan karena kandungan senyawa fenolat serta flavonoidnya yang terdapat pada daunnya, dan didapatkan bahwa nilai aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar $81,43 \pm 2,63$ ppm (Hikmawanti, dkk., 2021).

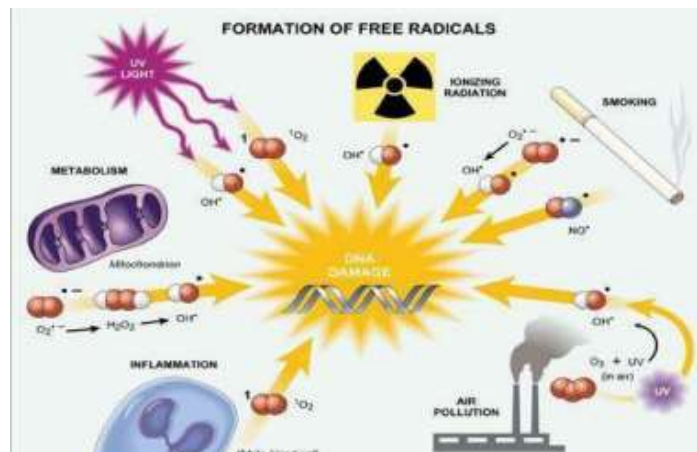
Ekstrak etanol dan metanol dari tanaman katuk telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli* dan bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella Typhi* (Laveena dan Chandra, 2018; Winarsih, dkk., 2015; Yusriyani, dkk., 2019). Daun Katuk secara signifikan dapat mencegah pertumbuhan *Salmonella Typhi* yang didasari pada percobaan yang telah dilakukan membuktikan bahwa ekstrak etanolik daun katuk terbukti dapat mencegah pertumbuhan *Salmonella typhi* (Winarsih, dkk., 2015). Penelitian lainnya dilakukan oleh (Laveena dan Chandra, 2018), dilaporkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak metanol dari daun katuk diselidiki terhadap dua strain bakteri, yaitu *Staphylococcus aureus* serta *Escherichia coli* lebih aktif jika dibandingkan dengan ekstrak daun dadap ayam. penghambatan pertumbuhan mikroba ekstrak daun metanol tanaman dan MIC daun katuk ditemukan paling kuat melawan mikroba yang menunjukkan 19,48 mm dan 17,68 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak daun katuk ditemukan dapat mencegah *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 10% dan *E. coli* 20%. Kehadiran flavonoid dan tanin dalam tanaman ini mungkin bertanggung jawab sebagai antibakteri.

Tanaman katuk dipercaya secara luas di sebagian besar kawasan Asia Tenggara seperti Thailand, Indonesia, dan Malaysia, digunakan untuk meningkatkan hasil ASI selama menyusui. Kedua hormon prolaktin dan oksitosin terlibat dalam proses sintesis dan sekresi susu, Bertindak dengan cara independen terhadap reseptor seluler yang beragam, aksi tersebut sangat penting untuk keberhasilan laktasi (Zhang, dkk., 2020). Menurut penelitian oleh (Juliastuti, 2019), yang dilakukan sampling pada 20 ribu ibu menyusui, didapatkan bahwa ekstrak dari daun katuk efektif dalam peningkatan ASI ibu menyusui. Dalam penelitian ini, rebusan dari daun katuk terbukti meningkatkan berat badan pada bayi. Selain itu tanaman katuk juga telah banyak digunakan untuk obat diet alami dan memiliki nutrisi dalam jumlah besar dan mampu menurunkan berat badan dengan cepat (Zhang, dkk., 2020). Sebuah penelitian mengkonfirmasi bahwa ekstrak etanol daun katuk mempunyai aktivitas antiobesitas yang ditunjukkan dengan adanya penurunan berat badan hewan uji yang signifikan dengan pemberian ekstrak daun katuk (Patonah, dkk., 2017).

Pada studi antiinflamasi ekstrak etanol daun katuk f tikus yang diinduksi karagenin, didapatkan bahwa tambalan ekstrak dari daun katuk dengan dosis 400 mg/kg BB mempunyai persentase pencegahan inflamasi antara 66,67-100%. Didapatkan juga bahwa, tambalan ekstrak daun katuk etanol dibandingkan dengan tambalan natrium diklofenak dengan metode statistik anova memiliki relatif efektivitas sama dalam menyembuhkan peradangan (Desnita, et al., 2018).

2.2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang tidak stabil dengan satu atom atau lebih elektron yang tidak memiliki pasangan pada orbit terluarnya. Molekul yang tidak mempunyai pasangan akan menjadi radikal karena tidak stabil, sehingga molekul ini akan selalu mencari pasangan elektron dengan cara menerima elektron secara membabi buta dari molekul lain (Khaira, 2016). Radikal bebas mempunyai bentuk yang bermacam tetapi yang berada paling umum di dalam tubuh pada sistem biologis adalah radikal bebas dengan turunan oksigen berasal dari *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) (Parwata, 2016).



Gambar 2.2.1. Radikal bebas yang menyerang DNA (Parwata, 2016).

Radikal bebas memiliki dua sumber utama, yaitu endogen dan eksogen. Sumber Radikal bebas endogen merupakan metabolit dari sel normal yang umum pada manusia seperti proses oksidasi dari makanan, proses oksidasi xanthine dan olahraga yang berlebihan. Sedangkan radikal bebas eksogen merupakan hasil paparan zat lain dari luar tubuh, yaitu polutan udara, paparan radiasi, bahan kimia karsinogenik, efek obat (narkotika dan pestisida), asap rokok, bakteri, dan virus. Paparan radikal bebas di luar tubuh ini termasuk spesies oksigen reaktif. Spesies oksigen reaktif terdiri dari superoksida, hidroksil, hidrogen peroksida, oksigen singlet, oksida nitrat, perak nitrat dan asam hipoklorit. Radikal bebas yang biasanya terbentuk di dalam tubuh adalah super peroksida. Hidrogen peroksida ini diubah menjadi hidrogen peroksida di dalam tubuh. Hidrogen ini dalam fase proliferasi diubah menjadi radikal bebas hidroksil lipid peroksida pada membran sel dan akan merusak sel (Parwata, 2016).

Di dalam tubuh, zat radikal bebas ini menghasilkan efek samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel saat terkena radikal bebas. Radikal bebas ini akan bereaksi dengan molekul sel yang berada disekitarnya untuk mendapatkan pasangan elektron, membuatnya lebih stabil, dan molekul sel manusia yang ditangkap oleh elektron ini menjadi radikal bebas. Reaksi ini

menyebabkan kerusakan DNA atau sel, peradangan, dan berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, katarak, penuaan dini dan penyakit lainnya (Parwata, 2016).

Karena radikal bebas berdampak besar bagi kesehatan manusia, maka tubuh manusia perlu mengambil senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas, sehingga dapat menghentikan reaksi lebih lanjut yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan menghindari kerusakan sel (Parwata, 2016).

2.3. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa dengan struktur molekulnya dapat mendonorkan elektron pada molekul radikal bebas sehingga terjadi pemutusan rantai reaksi radikal bebas. Ada 3 jenis antioksidan, yaitu:

- a. Antioksidan endogen adalah antioksidan dalam bentuk enzim, contohnya yaitu superoksida dismutase, katalase, dan glutathione.
- b. Antioksidan alami adalah antioksidan yang dapat ditemukan pada tanaman atau hewan, seperti tokoferol, senyawa fenol, flavonoid, karoten, dan vitamin C.
- c. Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang berasal dari bahan kimia, yaitu seperti *butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), *Tertiary Butylhydroquinone* (TBHQ), *Propyl Galat* (PG), dan *Nordihydroguaiaretic Acid* (NDGA), yang ditambahkan ke makanan bertujuan mencegah pemecahan lemak.

Menurut fungsinya, antioksidan dapat dibedakan menjadi 5 jenis, yaitu:

1. Antioksidan primer memiliki fungsi sebagai pencegah pembentukan senyawa radikal bebas karena mampu mengubah molekul radikal bebas yang sudah ada menjadi molekul memiliki efek negatif rendah. Antioksidan yang paling terkenal di dalam tubuh adalah enzim superoksida dismutase. Enzim ini berperan sangat penting karena dapat mencegah sel-sel di dalam tubuh dari kerusakan yang diakibatkan serangan radikal bebas. Kerja enzim dapat dipengaruhi oleh zat mineral seperti seng, tembaga, dan mangan.
2. Antioksidan sekunder adalah senyawa dengan memiliki kemampuan menangkap molekul radikal bebas sehingga mampu mencegah terjadinya suatu reaksi berantai sehingga tidak akan terjadi kerusakan yang lebih parah, contohnya flavonoid, betakaroten, vitamin C, dan vitamin E yang dapat ditemukan di dalam tumbuhan.
3. Antioksidan tersier adalah senyawa yang dapat memperbaiki sel serta jaringan yang sudah rusak akibat serangan dari radikal bebas, biasanya berupa enzim yang memperbaiki DNA

di dalam nukleus, seperti metionin sulfoksida reduktase. Enzim ini membantu perbaikan DNA pada pasien kanker.

4. Antioksidan *oxygen Scavenger* merupakan senyawa yang mampu berikatan dengan oksigen, sehingga tidak akan terjadinya suatu reaksi oksidasi contohnya vitamin C
5. Antioksidan Chelators/ Sequestrants adalah antioksidan ini mengikat logam yang bertindak sebagai katalis untuk reaksi oksidasi. Contoh jenis antioksidan ini antara lain asam sitrat dan asam amino.

Antioksidan terbagi menjadi dua fungsi mekanisme kerja, Fungsi yang pertama adalah fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai donor atom hidrogen. Antioksidan (AH) dengan gugus fungsi primer sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini mampu dengan cepat mendonorkan atom hidrogen ke radikal lipid ($R\bullet$, $ROO\bullet$) atau merubahnya menjadi molekul yang lebih stabil, sedangkan turunan dari radikal antioksidan ($A\bullet$) mempunyai keadaan yang lebih stabil jika dibandingkan dengan radikal lipid. Fungsi kedua adalah fungsi sekunder dari antioksidan yaitu dapat memperlambat laju autooksidasi melalui berbagai mekanisme yang mampu merubah radikal lipid menjadi bentuk yang lebih stabil. (Suhartono, 2009).

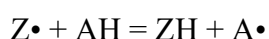
2.4. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Ada beberapa metode uji yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas dan kapasitas senyawa antioksidan yang dimiliki ekstrak tumbuhan, diantaranya adalah metode diantaranya yaitu metode 2,2-diphenyl-1- picryl hydrazyl. (DPPH), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), *Ferric reducing antioxidant power* (FRAP), *Potassium Ferricyanide Reducing Antioxidant Parameter* (PFRAP), *Oxygen radical absorbance capacity* (ORAC), *Cupric Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), *Fluorimetry* dan lain sebagainya (Dokki, 2014). Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa metode uji DPPH adalah metode yang paling banyak dipakai untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan, makanan dan senyawa tunggal. Uji DPPH dianggap sebagai metode yang cepat, akurat, mudah, dapat diterapkan pada sampel kecil, sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi kecil, dan senyawa radikal DPPH relatif stabil dibandingkan metode lainnya (Blois, 1958; Friatna, 2011; Nurfadila dan Ananda, 2021; Sánchez, dkk., 1998).

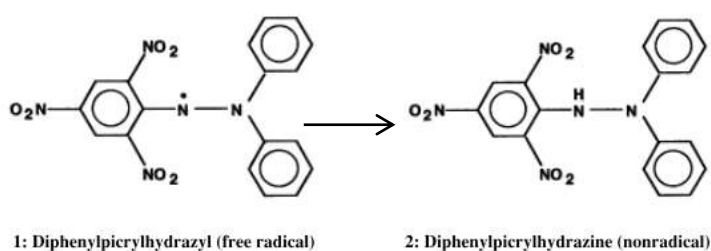
Metode ini dikembangkan oleh (Blois, 1958) untuk menetapkan aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas yang distabilkan, α , α -diphenyl- β - pikri hidrazin. DPPH adalah pengujian untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada sampel uji dengan mengamati kemampuan dalam menahan radikal bebas DPPH. Sumber senyawa radikal bebas dalam metode ini adalah senyawa 1,1-difenil-2-pikri hidrazin. DPPH dicirikan sebagai senyawa

radikal bebas stabil berdasarkan elektron cadangan yang terdelokalisasi di seluruh molekul, sehingga molekul tidak mengalami dimerisasi seperti kebanyakan senyawa radikal bebas yang lainnya. Delokalisasi juga menghasilkan warna ungu tua, yang diwakili oleh pita serapan yang berpusat pada serapan pada 520 nm dalam larutan etanol. Ketika larutan DPPH dicampur dengan zat yang dapat mendonorkan atom hidrogen, menghasilkan bentuk tereduksi dengan hilangnya warna ungu ini (meskipun diharapkan masih ada sisa akan warna kuning pucat yang dipertahankan dari gugus pikril). Evaluasi aktivitas antioksidan dengan perubahan absorbansi DPPH harus diinterpretasikan secara hati-hati karena absorbansi DPPH pada 517 nm dapat berkurang oleh cahaya, oksigen, pH, dan jenis pelarut selain antioksidan. (Molyneux, 2004; Ozcelik, dkk., 2014).

Berikut merupakan reaksi utama DPPH:



Dimana radikal DPPH diwakili oleh $Z\bullet$ yaitu radikal bebas yang terbentuk dalam sistem aktivitasnya, molekul donor diwakili oleh AH, ZH adalah bentuk tereduksi dan $A\bullet$ adalah radikal bebas yang dihasilkan pada langkah pertama. Radikal yang terakhir ini kemudian akan mengalami reaksi lebih lanjut, sehingga mengontrol stoikiometri keseluruhan, jumlah molekul DPPH yang direduksi (dihilangkan warna) oleh satu molekul agen pereduksi. Oleh karena itu, reaksi utama DPPH dirancang untuk memberikan hubungan dengan reaksi yang terjadi dalam sistem oksidatif, seperti autooksidasi lipid atau spesies tak jenuh lainnya. Prinsip deteksi DPPH adalah memberikan atom hidrogen dalam zat yang diuji kepada radikal DPPH untuk membentuk senyawa non-radikal difenil pikril hidrazin, yang ditunjukkan dengan perubahan warna (Molyneux, 2004).



Gambar 2.4.1. Reaksi radikal bebas menjadi tidak radikal melalui penambahan atom H

Daya antioksidan kemudian dianalisis dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada perubahan absorbansi dari DPPH pada panjang gelombang tertentu. Hasil uji Daya antioksidan metode DPPH diinterpretasikan menggunakan konsentrasi efektif 50% (EC_{50}), atau lebih umum dikenal sebagai konsentrasi hambat 50% (IC_{50}). Nilai konsentrasi hambat 50% (IC_{50}) adalah konsentrasi ekstrak yang dinyatakan dalam $\mu\text{g/mL}$ (microgram per

milliliter) dan diartikan sebagai aktivitas konsentrasi dari substrat yang mengakibatkan hilangnya 50% warna pada DPPH. Kelemahan parameter ini adalah semakin tinggi suatu aktivitas antioksidan maka nilai yang dihasilkan semakin rendah (Molyneux, 2004). Aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} dapat dikategorikan sebagai berikut, yang disajikan pada tabel II.3.

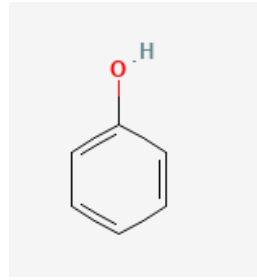
Tabel II.3. Kategori Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50} (Molyneux, 2004).

No	Kategori	Nilai IC_{50} (ppm)
1.	Sangat kuat	<50
2.	Kuat	50-100
3.	Sedang	100-150
4.	Lemah	150-200
5.	Sangat lemah	>200

Kelebihan dari metode DPPH yaitu cepat, sederhana, akurat, tidak membutuhkan reagen kimia yang banyak, dapat diterapkan pada sampel kecil, dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi kecil. Sementara itu, kelemahan metode ini adalah DPPH hanya dapat memberikan informasi senyawa-senyawa yang diuji dan hanya dapat mengukur senyawa anti radikal yang terlarut dalam pelarut organik, terutama alkohol. DPPH juga sensitif terhadap cahaya, sehingga jika terkena cahaya akan mempengaruhi absorbansi DPPH. Namun dapat diatasi dengan menambahkan DPPH pada ruangan tertutup dan gelap. (Muthia, dkk., 2019; Nurfadila dan Rustam, 2021; Ozcelik, dkk., 2014).

2.5. Senyawa fenol

Senyawa fenol adalah suatu zat tanaman yang mempunyai kesamaan cincin aromatik yaitu memiliki satu atau lebih substituen hidroksil pada struktur kimianya. Zat fenol cenderung larut di dalam air, karena umumnya dapat berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terletak di vakuola sel. Di antara senyawa fenol alami, yang lebih dari seribu strukturnya telah diketahui, flavonoid ditemukan membentuk kelompok terbesar tetapi fenol monosiklik sederhana, fenil-propanoid dan kuinon fenolik juga ada dalam jumlah yang cukup besar (Harborne, 1973). Berikut merupakan struktur kimia dari fenol:



Gambar 2.5.1. Struktur Fenol

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenol#section=2D-Structure>)

Senyawa fenolat termasuk kedalam kelompok senyawa organik paling melimpah kedua di dalam tumbuhan. Di dalam tumbuhan senyawa fenol dapat ditemukan di sebagian besar jaringan tanaman, termasuk bagian yang dapat dimakan seperti buah, biji, daun, batang, akar, dll. Senyawa ini juga menunjukkan aktivitas yang berbeda di tumbuhan seperti dukungan struktural, dan perlindungan terhadap radiasi matahari ultraviolet (UV), stres biotik atau abiotik, patogen, serta memainkan peran penting dalam potensi manfaat kesehatan bagi tubuh (de la Rosa, L. A., et al., 2018).

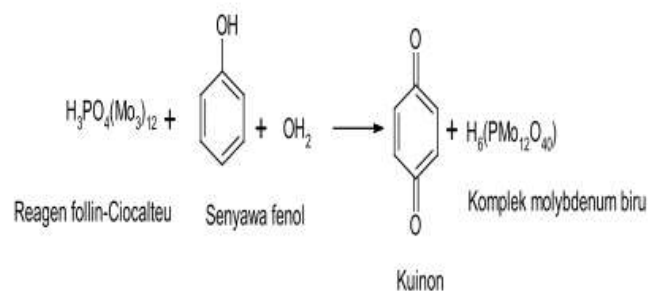
Fenol adalah zat kristal tidak memiliki warna dengan bau khas. senyawa fenol dapat teroksidasi dan bertindak sebagai agen pereduksi (Hoffmann, et al., 1995). Senyawa Fenol lebih asam jika dibandingkan dengan alkohol, namun lebih basa dari asam alkali Karbonat, karena fenolat dapat melepaskan ion H^+ dari golongan hidroksil. Pelepasan ion H^+ membuat anion fenolat menjadi $C_6H_5O^-$ ini larut dalam air. Titik lebur fenol adalah $41^\circ C$ dan titik didihnya $181^\circ C$. Kelarutan fenol dalam air terbatas, 8,3 g/100 ml. Senyawa fenol bersifat racun dan korosif (iritasi) pada kulit, sehingga menyebabkan gangguan kesehatan manusia dan kematian organisme dalam konsentrasi tertentu. Banyaknya atom atau molekul yang terikat pada rantai benzena pada senyawa fenolat dapat menyebabkan perbedaan tingkat toksisitas (Heliawati, 2018).

2.5.1. Penetapan Kadar Senyawa Golongan Fenol

Analisis senyawa fenol dapat dilakukan pengujian secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif senyawa fenol dapat dilakukan menggunakan pereaksi $FeCl_3$. Uji dengan menambahkan 4 gram ekstrak dan air panas serta beberapa tetes $FeCl_3$ 1%. Tes positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru atau ungu (Heliawati, 2018).

Kandungan total fenol dapat diukur dengan menggunakan metode kolorimetri Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu adalah larutan kompleks yang terbentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Reagen dibuat dari air, natrium tungstate, natrium molybdate, asam fosfat, asam klorida, lithium, sulfat, dan bromin (Harjono, 2012). Prinsip metode ini adalah oksidasi gugus hidroksil fenolat. Reagen yang dipakai adalah ion polimer yang dibentuk

oleh asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Reagen ini mengoksidasi fenolat (garam basa) dan mereduksi asam heteropoli menjadi kompleks molibdenum-tungsten (Wo-W) (Heliawati, 2018). Selama terjadi reaksi, gugus hidroksil fenolat dari sampel akan bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu membentuk asam fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru. Kompleks garam warna biru yang dihasilkan dari reaksi ini akan relatif kental, dengan konsentrasi yang sama dari senyawa fenolat yang terkandung dalam larutan uji, dan memiliki daya serap yang kuat pada panjang gelombang 760 nm (Blainski, et al., 2013). Berikut reaksi Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolat:



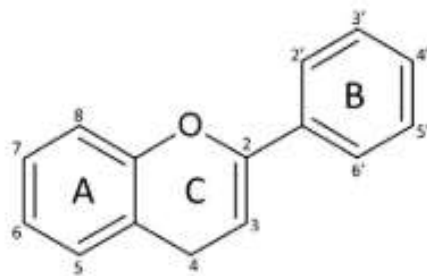
Gambar 2.5.1.1. Reaksi Reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolat (Tursiman, dkk., 2012).

Metode Folin-Ciocalteu adalah metode yang sensitif, sederhana dan menyeluruh. Metode ini dapat mengukur komponen selain fenolat, tetapi memiliki spesifisitas yang rendah. Reagen Folin-Ciocalteu mendeteksi semua gugus fenol dalam ekstrak (Kartikasari, dkk., 2015).

2.6. Senyawa Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa fenolat yang paling melimpah di dalam buah-buahan dan sayuran. Flavonoid memiliki 15 atom karbon yang banyak dijumpai pada seluruh bagian tanaman. Senyawa ini mengandung kerangka fenil benzofuran dua cincin fenil (A dan B) bergabung melalui cincin piran heterosiklik (cincin C) (Heliawati, 2018; de la Rosa, L. A., et al., 2018).

Kerangka dasar dan penomoran atom dalam flavonoid ditunjukkan pada gambar 2.6.1.:



Gambar 2.6.1. Kerangka dasar dan penomoran atom dalam flavonoid (de la Rosa, L. A., et al., 2018).

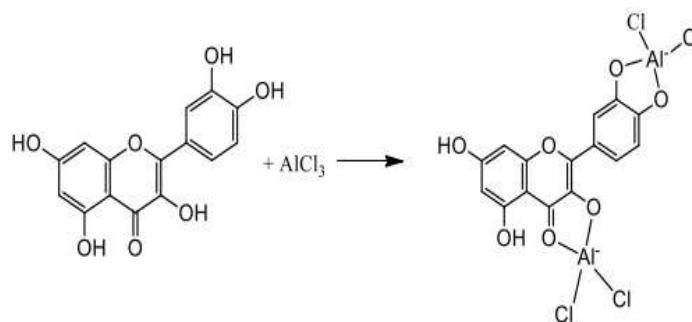
Senyawa flavonoid merupakan zat warna seperti kuning, merah, ungu, dan biru yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa flavonoid ini sangat bermanfaat karena merupakan senyawa fenolat,

yaitu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (Damar, dkk., 2014). Flavonoid termasuk senyawa metabolit sekunder yang bermacam-macam dan tersebar luas pada tumbuhan. Sekitar 5-10% metabolit sekunder pada tanaman merupakan flavonoid, yang memiliki struktur kimia serta fungsi biologisnya yang beraneka ragam (Heliawati, 2018).

2.6.1. Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid

Penentuan kuantitatif kandungan flavonoid pada ekstrak yang dianalisis dengan metode chang. Metode chang merupakan metode kolorimetri yang menggunakan aluminium klorida sebagai penyusun komposit, akan membentuk warna jika ditambahkan senyawa flavonoid, dan warna dapat diukur dengan spektrofotometri. absorbansi diukur menunjukkan flavonoid. Kandungan flavonoid dibandingkan dengan kuersetin Pada prinsipnya, metode kolorimetri aluminium klorida adalah aluminium klorida yang membentuk kompleks yang stabil dengan gugus hidroksil keton dan gugus o-dihidroksi. Selain itu, amonium klorida membentuk kompleks flavonoid yang tidak stabil (Ordoñez, dkk.. 2006).

Pengukuran total flavonoid yang dimiliki sampel dapat dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan pereaksi aluminium klorida (AlCl_3), prinsip penetapan flavonoid total menggunakan metode ini adalah pembentukan kompleks, yang akan menyebabkan pergeseran panjang gelombang larutan ke arah yang terlihat lebih kuning. AlCl_3 akan bereaksi dengan gugus keton dari C4 dan gugus OH dari C3 atau C5 dari senyawa flavon atau flavonol yang akan terbentuk senyawa kompleks yang stabil. Artinya metode ini dapat digunakan sebagai penentu jumlah flavonoid dan gugus flavonol (Fadillah, dkk., 2017). Reaksi pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan flavon dapat dilihat pada Gambar 6.2.1.1 berikut:



Gambar 2.6.1.1. Reaksi pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan flavon (Fadillah, dkk., 2017).

2.7. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara yang dilakukan untuk mengekstraksi kandungan kimia yang dimiliki suatu sampel dengan digunakannya pelarut yang sesuai. Ekstraksi yang tepat dan benar

bergantung pada jenis senyawa, tekstur dan kadar air dari bahan tanaman yang akan dilakukan diekstraksi (Harborne, 1996).

Ada dua metode yang umum digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu ekstraksi dingin dan ekstraksi panas. Ekstraksi dingin meliputi dua metode ekstraksi, maserasi dan perkolasi. Sedangkan metode ekstraksi termal meliputi metode refluks, metode Soxhlet, metode destruksi, metode infus dan metode dekok (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi menggunakan pelarut berlandaskan pada polaritas suatu zat di dalam pelarut selama ekstraksi. Senyawa yang bersifat polar hanya akan terlarut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air. Begitupun senyawa bersifat non polar hanya akan terlarut dalam pelarut non polar seperti eter, kloroform dan n-heksana. Jenis dan kualitas pelarut yang akan digunakan juga akan menentukan keberhasilan pada proses ekstraksi. Pelarut yang akan digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkan, memiliki titik didih rendah, tidak beracun, murah, dan tidak mudah terbakar (Harborne, 1987).

Hasil ekstraksi ini berupa ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Depkes RI, 1979). Berikut ini adalah berbagai metode

2.7.1. Cara Panas

II.4.4.1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi menggunakan pelarut dengan pemanasan dalam jangka waktu tertentu dan relatif stabil karena adanya pendinginan balik. Biasanya, proses ini diulang hingga 3-5 kali pada hasil residu pertama, sehingga dianggap sebagai proses ekstraksi yang lengkap.

2.7.1.2. Soxhlet

Ekstraksi soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang akan selalu baru, biasanya menggunakan alat khusus untuk memungkinkan ekstraksi secara terus menerus dengan jumlah pelarut yang akan relatif stabil karena adanya pendinginan balik.

2.7.1.3. Digestif

Digestif dilakukan dengan maserasi kinetik (pengadukan secara terus menerus) pada suhu di atas suhu kamar, biasanya pada 40-50 ° C.

2.7.1.4. Infus

Infus dilakukan menggunakan pelarut air pada suhu penangas air yaitu 96-98°C. Bejana yang digunakan dalam perendaman direndam dalam air mendidih selama waktu 15-20 menit.).

2.7.1.5. Dekok

Dekok merupakan infus namun dengan waktu lebih lama yaitu 30 menit pada suhu sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).