

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tanaman

#### 2.1.1 Tanaman pepaya jepang

Tanaman pepaya jepang (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M.Johnst) ini dapat digunakan sebagai sayuran dan sebagai obat tradisional yang digunakan sebagai antidiabetes dan antihipertensi. Dikarenakan pada tanaman ini adanya kandungan senyawa flavonoid yang tinggi. Selain itu terdapat juga kandungan zat aktif lainnya seperti senyawa saponin, dan fenolat. Tanaman papaya jepang ini walaupun terdapat nama negara Jepang sebenarnya tanaman ini bukan berasal dari negara jepang dan bila di bandingkan dengan tanaman papaya cukup berbeda dilihat dari ukuran pada pohon pepaya jepang ini lebih pendek bila di bandingkan dengan pohon pepaya biasa, karena pada tanaman ini tidak dapat berbuah tetapi dilihat dari bentuk daunnya yang menyerupai daun pepaya, maka orang menyebutnya sebagai daun pepaya jepang (Nurwandani, 2019). Di Negara Meksiko terdapat dua spesies yang diketahui dengan nama umum yaitu: *Cnidoscolus-chayamansa* dan *Cnidoscolus aconitifolius*, kedua spesies ini dapat digunakan sebagai tanaman hias, selain itu digunakan sebagai obat tradisional serta digunakan sebagai makanan. Dari kedua spesies ini termasuk kedalam keluarga Euphorbiaceae, yang terdiri dari lebih 50 spesies dan tersebar pada daerah tropis salah satunya Negara Indonesia (Tribute et al., 2014).

#### 2.1.2 Klasifikasi

Berdasarkan ITIS, 2016 klasifikasi dari tanamana Pepaya jepang adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malpighiales
Keluarga	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Cnidoscolus</i> Pohl
Spesies	: <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst.

### 2.1.3 Morfologi

Tanaman pepaya jepang ini termasuk kedalam jenis semak hijau yang memiliki daun berlobus melengkung, selain itu memiliki getah susu, dan bunga putih kecil yang termasuk jenis bunga majemuk. Tanaman ini dapat tumbuh hingga ketigga 6 meter. Untuk ukuran daun pepaya jepang ini memiliki bentuk yang besar dan lebar (sukulen), dengan 32 cm untuk panjangnya dan 30 cm untuk lebar dari daunnya. (Tribute et al., 2014).



Gambar 2.1 Tumbuhan Pepaya Jepang

(Istimewa,2021)

### 2.1.4 Kandungan Pepaya Jepang

Kandungan pada tanaman pepaya jepang tanaman pepaya jepang (*Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst). Ini terdapat adanya kandungan protein, serat, dan memiliki kandungan rendah lemak, selain itu terdapat senyawa sekunder lainnya seperti senyawa saponin, steroid dan adanya senyawa flavonoid yang tinggi. Serta terdapat beberapa kandungan mineral lainnya seperti besi sebanyak 2,2 gram , mangan sebanyak 2,33 gram, magnesium 1,90 gram, kalium sebanyak 3,66 gram, seng sebanyak 2,33 gram, adapun protein sebanyak 14,60 gram (Oyagbemi et al., 2011). Setelah dilakukannya penelitian penelitian lain untuk tanaman pepaya jepang ini memiliki banyak aktivitas biologis yang berbeda yaitu sebagai antioksidan, antidiabetes, antiinflamasi, antihipertensi dan antibakteri (Nurwandani, 2019).

## 2.2 Tinjauan Antioksidan

### 2.2.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan disebut suatu inhibitor yang dapat bekerja dengan cara menghambat suatu reaksi oksidasi yang terjadi dengan cara bereaksi bersama senyawa radikal bebas yang

memiliki sifat reaktif dan menjadikan senyawa radikal bebas tersebut tidak reaktif. Senyawa antioksidan dapat mencegah kerusakan yang terjadi akibat adanya proses oksidasi pada jaringan tubuh (Febrina, 2019). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mendonorkan salah satu elektronnya kepada senyawa yang memiliki sifat radikal sehingga aktivitas dari radikal tersebut terhambat. Dimana pada keadaan ketidak stabilan pada senyawa radikal bebas distabilkan oleh senyawa antioksidan dengan cara senyawa antioksidan tersebut mendonorkan elektron sehingga dapat melengkapi kekurangan elektron dari senyawa radikal bebas (Hani & Milanda, 2016).

Mekanisme dari antioksidan sendiri yaitu dengan cara melindungi sel-sel dan jaringan dengan menghilangkan senyawa radikal bebas dengan cara enzimatik atau dengan bantuan dari reaksi kimia langsung, selain itu dengan cara pengikatan ion logam yang terlibat dalam pembentukan senyawa reaktif, dan akan membantu memperbaiki kerusakan pada sel dan jaringan tubuh dan dengan cara menghilangkan molekul molekul yang dapat dikatakan rusak dan menggantikannya dengan molekul yang baru (Suhaling, 2012).

Terdapat 3 jenis antioksidan yaitu, jenis antioksidan primer contohnya adalah (*superoxidedismutase* (SOD), *glutathion peroxidase* (GPx), dan protein pengikat, ferritin, ceruloplasmin) dengan memiliki fungsi dapat mencegah terjadinya pembentukan molekul dari senyawa radikal bebas baru dan dapat mengganti sifat dari radikal bebas tersebut yang awalnya memiliki sifat berbahaya hingga sebagai senyawa yang tidak bersifat bahaya lagi. Terdapat juga jenis antioksidan sekunder contohnya dari vitamin C, vitamin E dan senyawa betacarotene untuk jenis antioksidan ini berfungsi sebagai senyawa yang menangkap radikal bebas serta mencegah reaksi terus menerus yang akan menimbulkan gangguan yang terjadi pada tubuh. Sedangkan untuk selanjutnya untuk jenis antioksidan tersier dengan contoh (DNA-repair enzym; methionin sulfoxidereductase) memiliki fungsi sebagai agen perbaikan dari kerusakan tubuh yang muncul akibat adanya reaksi yang dihasilkan oleh radikal bebas (Nadesul, 2006).

### **2.2.2 Macam Macam Sumber Antioksidan**

Manusia menghasilkan antioksidan pada tubuhnya sendiri, tetapi jumlahnya tidak mencukupi untuk mengatasi reaksi yang diakibatkan oleh senyawa radikal bebas yang abnormal sehingga diperlukannya tambahan dari antioksidan eksogen. Untuk antioksidan eksogen artinya antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Berdasarkan dari sumbernya

senyawa antioksidan eksogen terbagi menjadi 2 yaitu antioksidan yang di buat secara sintetis dan antioksidan yang terdapat di bahan alam atau antioksidan alami (Hani & Milanda, 2016).

Antioksidan sintetis yang diizinkan untuk makanan adalah propil galat, Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ), Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), serta tokoferol. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang dibuat secara sintetis dengan adanya tujuan komersial (Mitayani, 2010).

Untuk antioksidan alami sendiri biasanya dapat diperoleh dari makanan sehari-hari yang mengandung senyawa seperti vitamin A, C, dan E dan mengandung senyawa asam-asam fenolat contohnya seperti asam ferulat, asam elagat, asam klorogenat, dan asam kafeat serta golongan senyawa flavonoid contohnya seperti mirisetin, apigenin, kuersetin, luteolin, dan kaempferol (Boer, 2000). Dan masih banyak jenis bahan alam yang bisa menjadi sumber dari senyawa antioksidan alami yaitu pada teh, kakao, rempah-rempah, biji-bijian, buah-buahan, sayuran dan berbagai jenis alga laut (Mitayani, 2010).

### **2.3 Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah senyawa oksigen yang memiliki sifat reaktif, dengan struktur yang salah satu elektronnya tidak memiliki pasangan oleh karena itu menyebabkan senyawa radikal bebas bersifat reaktif dan sangat aktif untuk mencari pasangan, yaitu dengan mengikat elektron molekul yang ada di sekitar senyawa radikal bebas tersebut. Kerusakan yang terjadi pada sel atau jaringan, mengakibatkan adanya penyakit autoimun, terjadinya penyakit degeneratif hingga kanker merupakan dampak yang terjadi dari sifat reaktivitasnya senyawa radikal bebas (Franyoto et al., 2019).

Radikal bebas ini dapat terbentuk di dalam tubuh, dengan dipicu oleh beberapa faktor. Dimana senyawa radikal bebas dapat juga terbentuk dari senyawa yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi senyawa yang mudah berubah atau ketidak stabilannya sehingga berubah menjadi radikal bebas contohnya pada senyawa hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), ozon dan lain-lain (Suhaling, 2012). Selain itu contoh radikal bebas yang umum dan sering kita temui adalah polusi yang berasal dari kendaraan, ada pun paparan sinar matahari, berbagai radiasi yang di timbulkan dan asap rokok (Suryadinata, 2018).

Radikal bebas akan diproduksi didalam sel dengan cara reaksi pemindahan elektron, dengan adanya mediator enzimatik ataupun non enzimatik. Produksi dari senyawa radikal bebas dalam sel dapat terjadi secara terus menerus ((Dröge, 2002).

## **2.4 Tinjauan Ekstraksi**

### **2.4.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses dari penyarian suatu zat-zat yang berkhasiat atau zat-zat aktif yang ada pada bagian bagian tumbuhan, hewan dan dari biota laut (Rusmiati, 2016). Tujuan dari ekstraksi sendiri adalah untuk mendapatkan senyawa senyawa aktif yang ingin di dapatkan dari bahan yang mengandung komponen aktif tersebut (Afrianto, 2014). Untuk metodenya sendiri terdapat dua jenis metode ekstraksi dengan metode pemanasan dan metode tanpa pemanasan Selain itu metode dari ekstraksi dapat dibedakan berdasarkan pelarut yang digunakan yaitu ekstraksi tunggal yaitu dengan proses ekstraksi secara langsung hanya dengan hanya menggunakan salah satu jenis pelarut saja, dan untuk ekstraksi bertingkat sesuai dengan namanya merupakan proses ekstraksi yang dilakukan secara berulang menggunakan beberapa pelarut dengan mempertimbangkan tingkat kepolaran yang berbeda dari tiap pelarut (Dan & Pangan, 2007). Pada penelitian ini untuk metode ekstrakasi dengan adanya pemanasan yaitu refluks dimana dilakukan secara ekstraksi bertingkat.

### **2.4.2 Refluks**

Refluks merupakan metode ekstraksi yang mengalami pemanasan dengan menggunakan alat pendingin balik (kondensor) (Afrianto, 2014). Metode ekstraksi ini dapat digunakan pada sampel yang stabil terhadap panas. Pada metode ekstraksi refluks dilakukan dengan mencampurkan sampel dengan pelarut didalam labu alas bundar dengan adanya pemanasan yang dibantu oleh alat kondensor untuk mendinginkan dengan jangka waktu lebih cepat, biasanya 3–9 jam. Untuk kelebihan metode ini adalah waktu yang digunakan lebih singkat, selain itu sampel yang digunakan akan langsung mengalami kontak dengan pelarut secara terus menerus dengan pemanasan, dan untuk penggunaan pelarut lebih efektif dan efisien (Kiswandono, 2017).

Selain itu, metode reflux ini menggunakan cara panas sesuai pada kebiasaan sehari-hari dimana rempah - rempah yang biasa digunakan sebagai rempah dapur untuk pengolahan dapat melalui proses pemanasan. Adapun kekurangan dari metode ini adalah adanya

kerusakan-kerusaka komponen memiliki sifat yang tidak stabil dalam pemanasan (Afrianto, 2014).

Untuk memperkecil kerusakan yang di alami oleh kompenen tersebut, maka metode refluks ini dilakukan dalam dengan waktu yang singkat serta suhu dari pemanasan yang di atur sedemikian rupa agar tidak terlalu panas saat proses pemanasan dan untuk pemilihan pelarut dapat memilih pelarut yang tidak menimbulkan kerusakan pada sampel yang digunakan. Pemilihan pelarut yang tepat untuk digunakan pada metode ekstraksi dengan cara panas ini adalah pelarut yang memiliki titik didihnya lebih rendah dari titik didih air air (Pomeranz,Y; Meloan, 1994).

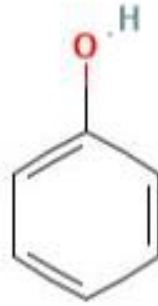
### **2.4.3 Ekstrak**

Ekstrak merupakan sediaan dari hasil proses ekstraksi suatu sampel yang mengandung zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan tekstur yang pekat dimana semua pelarut sudah diuapkan hingga mendapatkan ekstrak kental yang diperlakukan hingga memenuhi baku yang sudah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Ekstrak dapat berupa sediaan kering, kental atau cair diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Courtney, 2012).

## **2.5 Penetapan Kadar**

### **2.5.1 Penetapan Kadar Senyawa Fenolat**

Fenolat adalah senyawa metabolit sekunder terbesar yang ada di tumbuhan. Senyawa fenolat dapat berupa tannin, asam fenolat, lignin dan flavonoid (Watson, 2014). Senyawa fenolat bekerja dengan posisi sebagai aseptor dari radikal bebas dan merupakan pemutus rantai ikatan. Fenolat akan mengganggu proses dari oksidasi lipid dan molekul lainnya secara cepat dengan mendonorkan atom hidrogen pada senyawa radikal bebas (Dai & Mumper, 2010). Fenolat ( $C_6H_6OH$ ) adalah suatu senyawa organik dimana untuk gugus hidroksilnya terikat di cincin benzen (Nair et al., 2008).



Gambar 2. 2 Struktur Senyawa Fenol

(PubChem)

Dari senyawa fenolat dapat mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, hingga antibiotik. Senyawa fenolat ini dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok yaitu senyawa fenolat sederhana dan senyawa polifenolat. Untuk senyawa polifenolat sendiri dikatakan memiliki peran penting dalam stabilisasi oksidasi lipid dan berhubungan langsung dengan peran sebagai antioksidan (Huang et al., 2005).

Untuk metode dalam penetapan kadar senyawa fenolat total digunakan metode Folin-Ciocalteu. Dimana metode ini memiliki prinsip kerja dengan menghasilkan kompleks berwarna biru yang dihasilkan oleh terjadinya reaksi oksidasi dari senyawa fenolat pada keadaan basa dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dan akan menimbulkan serapan yang kuat di panjang gelombang 765 nm. Hasil absorbansi yang terbentuk akibat adanya perubahan yang terjadi dan terbentuknya kompleks berwarna biru menunjukkan bahwa banyaknya senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel, dan dapat diketahui berapa banyak dari kandungan total senyawa fenolat dari sampel dengan besaran ekuivalen asam galat (mg GAE/g ekstrak) (Cindrić et al., 2011).

Sebagai standar di gunakan asam galat pada metode ini dikarenakan untuk senyawa asam galat sendiri merupakan salah satu golongan senyawa fenolat yang terdapat di tanaman, selain itu juga asam galat adalah standar yang diajukan untuk mendapatkan hasil yang reliabel karena memiliki reaktivitas yang tinggi terhadap reagen Folin-Ciocalteu (Prior et al., 2005).

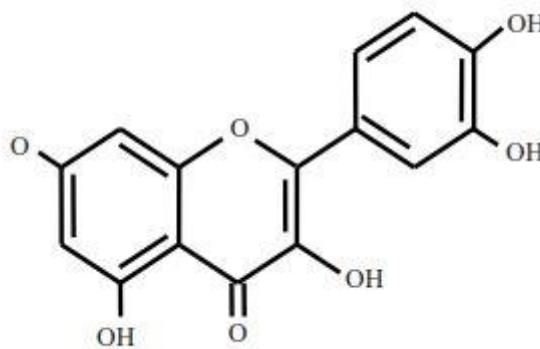
Untuk kelebihan dari metode Folin-Ciocalteu ini yaitu secara metode lebih sederhana dan cepat tetapi adapun kelemahannya dimana untuk reagen Folin Ciocalteu sendiri merupakan bahan yang sangat mudah terurai dalam larutan alkali, sehingga akan banyak dalam

penggunaan reagen tersebut untuk mendapatkan hasil yang lengkap, tetapi penggunaan reagen secara berlebihan akan berdampak juga dimana akan menyebabkan kekeruhan cukup yang tinggi, dan mengakibatkan pada saat analisis menggunakan spektrofotometri tidak akan bisa dilakukan karna tidak terbaca oleh alat spektrofotometer (Blainski et al., 2013).

### 2.5.2 Penetapan Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolat yang banyak terbesar di alam. Senyawa flavonoid dikenal memiliki peran sebagai antioksidan di dalam tubuh dan dapat disebut dengan bioflavonoid. Adanya aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid disebabkan memiliki gugus hidroksi pada struktur molekulnya. Senyawa flavonoid memiliki sifat kelarutan sebagai senyawa polar sehingga senyawa flavonoid akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga seperti pelarut etanol, butanol, metanol, aseton dan pelarut polar lainnya (Arifin & Ibrahim, 2018).

Menurut Koosha (2016) senyawa flavonoid terbagi menjadi lima subkelas utama yaitu flavonol, flavanon, flavonone, flavan-3-ols, dan flavanonols. Dimana hampir semua pada bagian tumbuhan memiliki kandungan senyawa flavonoid seperti pada bagian bunga, daun, akar, batang, kulit batang, buah maupun biji (Gusnedi, 2013)



Gambar 2. 3 struktur Senyawa Flvonoid

(Redha, 2010)

Senyawa Flavonoid merupakan seyawa yang dapat mereduksi dan bisa menghambat suatu reaksi oksidasi yang terjadi. Senyawa flavonoid sendiri dapat di katakana mampi meiliki aktivitas sebagai antioksidan dikarenakan senyawa flavonoid mampu mentransferkan elektron yang dimilikinya kepada senyawa radikal bebas (Haeria et al., 2016).



Pada metode ini senyawa kuersetin diajukan sebagai standar dikarenakan untuk senyawa kuersetin sendiri merupakan golongan dari senyawa flavonoid. Untuk metode ini menggunakan  $\text{AlCl}_3$  dengan prinsip terbentuknya kompleks yang stabil dengan C-4 di gugus keto, selain itu pada C-3 ataupun C-5 di gugus hidroksil dari senyawa flavon dan flavonol. Dengan dengan besaran quersetin ekuivalen mg QE/g ekstrak (Haeria et al., 2016)

## 2.6 Metode DPPH

Uji untuk aktivitas antioksidan dapat menggunakan beberapa metode dan untuk salah satunya dapat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH dimana DPPH sendiri adalah suatu senyawa yang dapat digolongkan kedalam senyawa radikal bebas yang lebih stabil dan tidak akan terbentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekulnya dibandingkan senyawa lainnya. Delokalisasi elektron bebas mengakibatkan perubahan warna menjadi berwarna ungu sehingga dapat diukur untuk absorbansinya di panjang gelombang sekitar 515-520 nm (Maesaroh et al., 2018). Untuk parameter dalam metode ini untuk melihat aktivitas antioksidan adalah berdasarkan hasil dari konsentrasi efisien atau  $\text{IC}_{50}$  dimana  $\text{IC}_{50}$  merupakan satuan konsentrasi dari suatu zat yang memiliki aktivitas antioksidan dengan menyebabkan 50% dari DPPH kehilangan sifat radikal bebasnya atau dikatakan sebagai konsentrasi dari zat yang berperan sebagai antioskidan dan memberikan hambatan sebanyak 50%. Untuk zat yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi akan mempunyai hasil  $\text{IC}_{50}$  nya rendah, sedangkan apabila hasil dari  $\text{IC}_{50}$  tinggi menunjukkan bahwa antioksidanya rendah. Terdapat nilai yang dikategorikan yaitu sangat kuat, kuat, sedang dan lemah (Wulansari, 2018).

Tabel 2.1 Kategori Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai  $\text{IC}_{50}$   
(Molyneux Philip, 2004)

No.	Kategori	Nilai $\text{IC}_{50}$
1.	Sangat Kuat	< 50
2.	Kuat	50 – 100
3.	Sedang	100 – 150
4.	Lemah	150 – 200
5.	Sangat Lemah	> 200

Untuk keuntungan dengan menggunakan metode DPPH adalah analisis yang bersifat sederhana, tidak memakan waktu yang lama, dapat dikatakan lebih mudah dibandingkan dengan metode lainnya, selain itu hanya menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit, memiliki tingkat sensitifitas terhadap sampel dengan konsentrasinya kecil dan bersifat relatif lebih stabil dibanding metode lainnya. Adapun kekurangannya dimana DPPH hanya dapat dilarutkan dengan menggunakan pelarut organik sehingga akan sedikit sulit bila untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofil (Rahmawati et al., 2016)