

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Taksonomi

Salah satu tanaman yang berasal dari Amerika Tengah dan Selatan, tanaman suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) juga dapat ditemukan di Asia Tenggara. Ini tumbuh subur di tanah lembab atau di bawah tanaman tinggi yang menerima banyak sinar matahari. Tanaman suruhan dapat tumbuh subur hingga 1000 meter di atas permukaan laut di dataran rendah Jawa (Kinho *et al.*, 2011).

Klasifikasi Tanaman Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) (Majumder *et al.*, 2011) :

Klasifikasi Tanaman Suruhan

Kingdom	Plantae
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Magnoliopsida
Ordo	Piperales
Famili	Piperaceae
Genus	<i>Peperomia</i> Ruiz & Pavon
Spesies	<i>Peperomia pellucida</i> L. Kunth
Sinonim	<i>Peperomia exigua</i> Miq

2.2. Nama lain

Tanaman suruhan dikenal dengan berbagai macam nama, antara lain tumpangan air (Sumatera, Jakarta), range-range, sladanan, suruhan (Jawa), sasaladaan (Sunda), gofu goroho (Ternate), ulasiman bato (Filipina), rumput ayam (Pasan Ratahan), cao hu jiao (Cina) dan phak hak kluai (Thailand) (Raghavendra H. L., 2018).

2.3. Morfologi

Tanaman suruhan tumbuh subur di daerah lembab, seperti di pekarangan rumah, di bawah dinding rumah atau di perbukitan. Tanaman suruhan tumbuh subur di lingkungan yang lembab dengan tingkat sinar matahari yang rendah. Lingkungan tanaman suruhan dapat ditemukan di dataran rendah maupun dataran tinggi. Tanaman suruhan adalah kerabat dari sirih (*Piper betle*). Batang tanaman ini bisa tumbuh hingga panjang 30 cm dan tingginya bisa mencapai 10-15 cm. Tangkai tanaman yang berbunga majemuk tumbuh ke ujung. Batang bercabang bulat dengan penampang 3-5 mm, batang banyak mengandung cairan batang berwarna hijau pucat dapat tumbuh setinggi 20-40cm (Kinho *et al.*, 2011).

Daun bertangkai tunggal sepanjang 1-3 cm dengan helaian lebar berbentuk hati dan ujung runcing. Daun memiliki dasar melengkung dengan bertulang melengkung dengan tepi yang rata. Daun memiliki permukaan atas hijau pucat berkilau dan bagian bawah pucat. Bunga tersebar sedemikian rupa sehingga terlihat seperti lada coklat. Setiap bunga memiliki lebar sekitar 1 mm, dan panjangnya bisa berkisar antara 1 hingga 6 cm.

Akar yang berserat namun tidak dalam, daun halus mengkilat, bunga pada tanaman ini berbentuk paku dan berkelompok. Bunga muncul di ujung batang dan di ketiak daun. Biji digunakan untuk berkembang biak (Kinho *et al.*, 2011).



Gambar 2.1. Tanamah suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth)

2.4. Kandungan kimia

Tanaman suruhan mengandung senyawa kimia seperti tanin, saponin, flavonoid, steroid/triterpenoid dan glikosida. Flavonoid (akasetin, apigenin, dan pellusidatin), alkaloid (secolignan, tetrahydrofuranlignan, peperomin, sesamin), inulin, fitosterols (stigmasterol, sitosterol, dan kampesterol) dan resin (Amarathunga and Kankanamge, 2017).

2.5. Manfaat

Karena kemampuannya untuk tumbuh subur di berbagai lingkungan yang lembab, tanaman banyak ditemukan. Penyakit asam urat dapat diobati secara empiris dengan meminum air hangat yang terbuat dari seluruh bagian tanaman atau dengan menggiling semua bagian tanaman dan meletakkannya dibagian yang sakit seperti pada sakit kepala atau demam. Sakit perut dapat diredakan dengan cara meremas, menyaring, dan meminum sari dari tanaman yang dihaluskan (Kinho *et al.*, 2011). Tanaman suruhan ini juga telah digunakan di Sulawesi Utara untuk menurunkan kolestrol, jerawat, sakit perut, sakit kepala, luka bakar, dan radang kulit.

2.6. Tinjauan farmakologi

Tanaman suruhan telah menjadi subjek banyak penelitian, dan beberapa penelitian ini menemukan bahwa lotion ekstrak daun suruhan memiliki aktivitas antioksidan 93,29% (Mulyani dkk., 2018). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun suruhan sebesar 32,94 mg/mL. (Yunarto, Nanang, Hanief Mulia Ar Rosseyid, 2018). Infus herba Suruhan mempunyai efek antiinflamasi pada tikus putih ($p < 0,05$) (Barung dkk., 2012). Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tanaman suruhan sebesar 83.74% (Fransisco dkk., 2017). Dan memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri penyebab jerawat (*Propionibacterium acnes*) pada konsentrasi 25% (6,65 mm) (Fadly Putrajaya, Nur Hasanah, 2019). Ekstrak etanolik herba suruhan memiliki aktivitas antioksidan tergolong sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 132,85 μ g/mL dengan metode DPPH (Pramita Yuli Pratiwi, Nur Atikah, Farisya Nurhaeni, 2021)

2.7. Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan sangat reaktif dalam tubuh dalam proses pengambilan elektron. Sehingga berpotensi merusak biomolekul dengan cara merusak integritas lipid, DNA dan protein. Akibatnya dapat meningkatkan stres oksidatif dan berkontribusi pada perkembangan penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, dan diabetes (Phaniendra *et al.*, 2015).

Stres oksidatif merupakan suatu keadaan yang terjadi ketika adanya produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang melebihi kapasitas dari sistem antioksidan selular. ROS merupakan molekul kecil yang biasa diproduksi dari reaksi radikal yang memiliki kapasitas untuk berinteraksi secara cepat dengan struktur selular. ROS biasanya sangat reaktif, waktu hidupnya pendek, dan tidak bisa bertransportasi ke jarak yang jauh di dalam tubuh organisme. ROS merusak struktur sel yang dekat dengan situs pembentukannya dan biasanya menyerang asam nukleat, protein, dan lipid dalam tubuh. (Ma, 2010). ROS umum termasuk radikal hidroksil (OH), superoksida (O_2), dan hidrogen peroksida (H_2O_2) (Rogers *et al.*, 2014)

2.8. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang menyumbangkan elektron. Antioksidan adalah molekul biologis yang dianggap dapat mengurangi atau menghilangkan efek merugikan dari oksidan dalam tubuh. Antioksidan memberikan satu elektron ke molekul oksidan, sehingga menghambat aktivitas oksidan. Untuk membantu menetralkan radikal bebas dalam tubuh, antioksidan dapat dibedakan secara endogen maupun eksogen. Glutathione dan ubiquinone adalah contoh antioksidan endogen yang dihasilkan oleh tubuh. Vitamin C, E, dan beta karoten adalah contoh antioksidan eksogen yang lebih ringan (R. Shyama Prasad Rao, 2011)

Stres oksidatif disebabkan oleh ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas sangat reaktif karena mereka memiliki satu atau lebih pasangan elektron, memungkinkan mereka untuk mengoksidasi senyawa seperti DNA, protein, lipid, dan karbohidrat. Antioksidan akan dioksidasi oleh radikal bebas dan mampu melindungi molekul lain di dalam sel dari radikal bebas (Sitti Salmiyah, 2018).

Antioksidan dalam tubuh dapat membantu mencegah timbulnya stres oksidatif. Antioksidan diklasifikasikan menjadi antioksidan primer, sekunder, dan tersier (Sitti Salmiyah, 2018).

2.8.1. Antioksidan primer

Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus) meliputi enzim super oksidase dismutase (SOD), glutathion peroksidase dan katalase. Molekul antioksidan primer dapat dengan cepat memberikan atom hidrogen pada antioksidan radikal, sehingga antioksidan radikal dapat membentuk senyawa yang stabil. Antioksidan primer bekerja dengan cara menghasilkan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang kurang reaktif. Enzim ini bekerja sebagai antioksidan, mengaktifkan generasi radikal bebas dengan mengganggu proses rantai dan dapat mengubahnya menjadi molekul yang lebih stabil. Antioksidan ini dikenal sebagai antioksidan pemutus rantai. Katalase dan glutathion peroksidase yang mengkatalisis reaksi dismutase radikal anion peroksidase menjadi H_2O_2 , sedangkan SOD mengkatalisis reaksi dismutase radikal anion peroksidase menjadi H_2O_2 (Dr. Drs I Made Oka Adi Parwata, 2016).

2.8.2. Antioksidan sekunder

Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogen) Kategori antioksidan ini juga dikenal sebagai sistem pertahanan preventif. Senyawa oksigen reaktif diproduksi dalam mekanisme pertahanan ini, namun diblokir atau dihancurkan oleh logam pengkelat. Antioksidan non-enzimatik dapat ditemukan pada komponen non-nutrisi dan nutrisi dari buah dan sayuran. Proses antioksidan non-enzimatik dilakukan dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas sehingga tidak dapat bereaksi dengan komponen seluler. Flavonoid, Vitamin E, bilirubin, Vitamin C, Karotenoid, albumin, dan asam urat semuanya merupakan antioksidan sekunder. Asam lipoat ditemukan dalam wortel, kentang, bit, ham, brokoli, ragi, dan daging merah. Vitamin C dan karotenoid banyak ditemukan pada tanaman dan buah-buahan. Antioksidan non-enzimatik bekerja dengan mengumpulkan radikal bebas dan membatasi reaktivitasnya yang diperkuat. Ketika

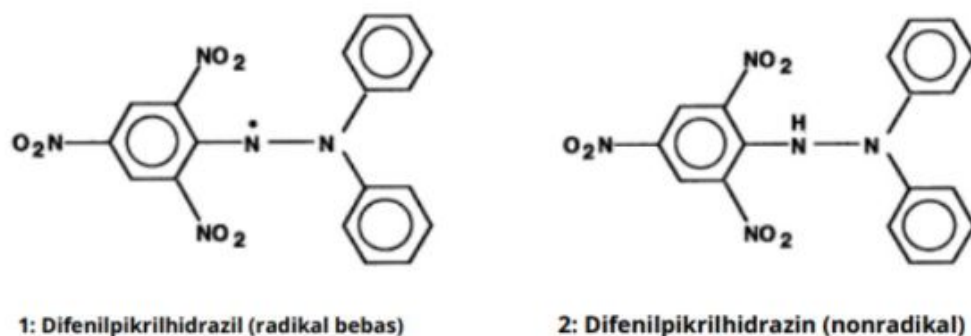
jumlah radikal bebas tinggi, tingkat antioksidan non-enzimatik turun (Dr. Drs I Made Oka Adi Parwata, 2016).

2.8.3. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier meliputi DNA *repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim ini terlibat dalam proses perbaikan komponen biomolekuler yang rusak yang dihasilkan oleh radikal bebas. Mutasi DNA akibat radikal bebas disertai dengan kelompok non-basa dan untai ganda beruntai tunggal dan ganda. Kerusakan mtDNA dan kerusakan DNA inti pada oksigen reaktif yang terjadi selama proses mtDNA dan perbaikan DNA inti. Secara umum, DNA glikosilase menghancurkan basa yang rusak dan menghasilkan eksisi basa. Protein Epg (MutM produk gen) dari *Echerechia colly*, yang ditemukan memiliki aktivitas DNA glikosilase dan lease pada sisi non-basa. Odonuklease, DNA polimerase, dan ligase menangani konsekuensi glikosilasi pada sisi non-basa. Namun, saat ini tidak ada bukti bahwa eksisi basa nukleotida dapat terjadi di mitokondria (Dr. Drs I Made Oka Adi Parwata, 2016).

2.9. Pengujian antioksidan dengan metode DPPH

Metode DPPH merupakan radikal nitrogen organik stabil berwarna ungu, digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam penelitian ini. Adanya bahan kimia pereduksi radikal mereduksi radikal DPPH dengan mendonorkan atom hidrogen untuk menghasilkan molekul difenilpikrilhidrazin (non-radikal), yang dibedakan dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (gugus pikril).



Gambar 2.2. Reaksi DPPH radikal bebas dan bentuk tereduksi

Penetapan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH digunakan parameter IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50% (Molyneux, 2004).

Tabel 2.1. Katagori 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

Dalam evaluasi antioksidan dengan metode DPPH, terdapat skrining yang bertujuan sebagai uji kuantitatif aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 515-520 nm. DPPH digunakan untuk mengevaluasi antioksidan yang bersifat polar dan hanya larut dalam pelarut organik seperti metanol. Selain itu, menurut berbagai publikasi, metode DPPH dipengaruhi oleh cahaya, jenis pelarut dan pH, waktu, garam, ion organik, dan suhu karena (Pyrzynska *and* Pe, 2013). Metode DPPH hanya larut dalam pelarut organik seperti metanol yang dapat digunakan untuk menganalisis antioksidan. Metode DPPH bersifat mudah, cepat, reversibel dan hanya membutuhkan spektrofotometer, namun terdapat beberapa kelemahan diantaranya sensitif terhadap cahaya, lambat dalam beberapa jenis antioksidan, mudah menggumpal, dan tidak sesuai untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam plasma (Kedare *and* Singh, 2011).

2.10. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses mendapatkan ekstrak kental yang mengandung komponen kimia dari sumber alami melalui prosedur ekstraksi dan pelarut yang sesuai. Ekstrak adalah hasil dari ekstraksi bahan alam. Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai.

2.11. Metode ekstraksi

Ekstraksi diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu ekstraksi dingin dan ekstraksi panas. Perkolasi dan maserasi digunakan untuk melakukan ekstraksi dingin. Ekstraksi menggunakan cara panas dilakukan dengan cara sokletasi, refluks, infus, dekok, dan digesti. Cara refluks digunakan dalam penelitian ini.

2.11.1. Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi panas yang berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi ditempatkan dalam labu dengan sistem pendingin. Aplikasi yang tepat dalam penggunaan pelarut yang sesuai yang kemudian dipanaskan sampai titik didihnya. Pelarut

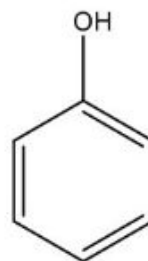
cair akan menguap melalui pendingin yang akan mengembunkan uap dan kembali menyari simplisia. Proses ini memakan waktu sekitar 3-4 jam untuk diselesaikan (Mukhriani, 2014).

Metode refluks bekerja berdasarkan gagasan bahwa pelarut menguap pada suhu tinggi dan akan didinginkan oleh kondensor sehingga menyebabkan pelarut dalam kondensor jatuh kembali ke bejana reaksi yang mempertahankan pelarut selama reaksi. Filtrat diuapkan dalam rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Hal ini dilakukan untuk memastikan tidak ada pelarut yang tertinggal dan sampel yang diperiksa yang akan mempengaruhi efektifitas sampel uji. Metode refluks mempunyai keuntungan proses yang cepat dan menggunakan lebih sedikit pelarut, dan dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur kasar. (Farrah Umainah Sineke dan Edi Suryanto, 2016).

2.12. Penetapan kadar

2.12.1 Penetapan kadar fenolat

Kelas terbesar antioksidan alami terdiri dari bahan kimia fenolik. Untuk memungkinkan cincin aromatik teroksidasi, radikal bebas menerima atom hidrogen dari gugus hidroksi senyawa fenolik, yang terdiri dari satu (fenol) atau beberapa (polifenol) cincin fenol. Kecenderungannya untuk menghasilkan radikal fenoksi yang stabil. Flavonoid, tanin, tokoferol, kumarin, lignin, turunan asam sinamat, dan asam organik polifungsional merupakan bahan kimia fenolik alami berupa polifenol yang menghasilkan senyawa eter, ester, atau glikosida. Senyawa fenol memiliki potensi antioksidan karena kecenderungannya untuk membentuk radikal fenoksi yang stabil selama proses oksidasi. Flavonoid, turunan asam sinamat, tanin, tokoferol, kumarin, lignin, dan asam organik polifungsional adalah polifenol yang menghasilkan molekul eter, glikosida, dan ester (Emy Dhurhanian, 2018).



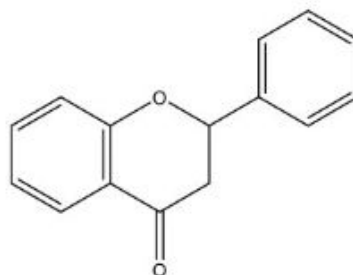
Gambar 2.3. Struktur Senyawa Fenolat (ChemBio)

Kandungan total fenolik ditentukan dengan menggunakan Folin Ciocalteu. Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena zat fenolik dapat bereaksi dengan Folin untuk membentuk larutan dan diukur absorbansi.

Metode ini adalah cara yang paling sering digunakan karena lebih sederhana dalam penggunaannya. Kandungan total fenolik ditentukan dengan menggunakan teknik Folin-Ciocalteu. Untuk mengevaluasi semua bahan kimia fenolik dalam bahan uji, metode Folin-Ciocalteu menggunakan prinsip oksidasi dan reaksi kolorimetri. Reaktor Folin-Ciocalteu adalah larutan kompleks ion polimer yang terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat (Budiana dkk., 2017). Dengan absorbansi diukur pada 765 nm. Asam galat yang termasuk kedalam fenolik alami dan stabil digunakan sebagai larutan standar. Asam galat adalah senyawa fenolik yang dihasilkan dari asam fenolik sederhana yaitu asam hidroksibenzoat. Asam galat berwarna kuning bila direaksikan dengan pereaksi Folin Ciocalteu, menunjukkan bahwa asam tersebut mengandung fenolik (Pourmorad *et al.*, 2006).

2.1.2. Penetapan kadar flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder turunan polifenol yang memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dan berperan sebagai antioksidan. Flavonoid adalah bahan kimia fenolik yang ditemukan dalam sayuran, kulit, buah, batang, akar, dan bunga. Berdasarkan atom karbon pada cincin C yang mengikat cincin B dan oksidasi cincin C, flavonoid dikategorikan menjadi empat kelompok yaitu flavon, flavonol, kalkon, dan isoflavon (A. N. Panche and A. D. Diwan, 2016). Aktivitas flavonoid untuk secara langsung mencari dan mengumpulkan spesies oksigen reaktif, kemudian mengkhelat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen secara langsung atau dengan transfer elektron tunggal (Procházková, 2010).



Gambar 2.4. Struktur senyawa flavonoid (ChemBio)

Karena flavonoid memiliki sifat pengkhelat yang diaktifkan untuk mengikat ion logam dalam tubuh manusia agar tidak mudah teroksidasi. Flavonoid tahan terhadap oksidasi

karena kemampuan pengkkelatan untuk mengikat ion logam dalam tubuh manusia, seperti senyawa kuersetin yang digunakan untuk pengkelat logam yaitu Fe^{2+} dan Cu^{2+} yang berperan dalam pembentukan senyawa radikal bebas. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan eksogen adalah pengkkelatan logam transisi (Liu and Guo, 2015). Flavonoid juga dapat menghambat enzim yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas, termasuk lipxygenase, xanthine oxidase, cyclooxygenase, dan protein kinase C. Cara kerja lain dari flavonoid adalah induksi enzim antioksidan endogen (Procházková, 2010).

Kandungan flavonoid total ditentukan dengan metode Chang *et al.* (2002). Prinsip dari metode AlCl_3 yaitu pembentukan kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keton, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Dalam penambahannya, aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid (Chang *et.al.*, 2002). Penambahan reagen seperti 10% AlCl_3 dan 5% asam asetat, dengan peran reagen AlCl_3 untuk menghasilkan reaksi antara AlCl_3 dan gugus flavonoid, yang menghasilkan kompleks antara gugus hidroksil dan keton atau gugus hidroksil yang berdekatan. Dalam senyawa flavon atau flavonol, AlCl_3 bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 untuk menghasilkan senyawa kimia kompleks berwarna kuning yang stabil (A. N. Panche dan A. D. Diwan, 2016).