

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Hasil yang diperoleh pada uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH ekstrak etanol daun belimbing wuluh yaitu $IC_{50}=112,82\mu\text{g/mL}$. (Kusumowati *et al*, 2012). Pada uji aktivitas antioksidan ekstrak dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat antioksidan berifat kuat (IC_{50} metanol 71,504 mg/L, IC_{50} etil asetat 76,629 mg/L) dan ekstrak heksana antioksidan bersifat sedang (IC_{50} 133,079 mg/L) dengan kadar fenolik total ekstrak heksan, etil asetat dan metanol masing - masing sebesar 4,133; 6,713 dan 9,930 mg GAE/10 mg ekstrak.

Pada daun belimbing wuluh menunjukkan adanya metabolit primer seperti aldehida, gula dan protein. Metabolit sekunder yang terdapat pada daun belimbing wuluh diantaranya yaitu glikosida jantung, flavonoid, alkaloid, fenol, tannin dan kumarin (Valsan dan Raphael, 2016). Penelitian yang telah dilakukan terhadap daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yaitu dalam ekstrak aquades daun belimbing wuluh mengandung kadar flavonoid 0,823 %, dalam ekstrak akuades + etanol 96 % 1,392 % dan ekstrak etanol 96 % 2,265 % (Ramadhan)

Daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri, penelitian dilakukan oleh Pendit, dkk 2016 dengan hasil rerata aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh akibat perlakuan jenis pelarut dan rasio bahan : pelarut (b/v) berkisar antara 6,22 mm sampai dengan 8,63 mm.

B. Landasan Teori

1. Radikal Bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai suatu molekul atom atau gabungan beberapa atom yang mempunyai satu atau lebih elektron bebas pada orbit terluarnya. Atom akan mengambil elektron dari zat atau senyawa di dekatnya yang menyebabkan senyawa lain menjadi radikal. Reaksi tersebut akan terus berlangsung sampai produk akhirnya

dikeluarkan oleh tubuh. Proses pengambilan elektron oleh radikal bebas disebut peristiwa oksidasi. (Muchtad, 2013).

Apabila dua radikal bebas saling bertemu maka akan terbentuk ikatan kovalen, tetapi jika radikal bebas bertemu dengan molekul non radikal bebas, maka akan terbentuk radikal bebas baru. Sifat radikal bebas yang dapat mengambil elektron lain dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel mempengaruhi pembuluh darah dan prostaglandin. Radikal bebas yang mengambil elektron bebas pada DNA dapat menyebabkan mutasi sel yang lama kelamaan dapat membentuk sel kanker. Radikal bebas juga berperan dalam proses menua akibat adanya reaksi inisiasi dalam mitokondria sehingga terbentuk senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Werdhasari, 2014).

Yang termasuk senyawa ROS diantaranya anion superoksida dan hidrosil. Senyawa tersebut dapat terjadi pada proses metabolisme makanan diubah menjadi energi, dimana pada proses ini sering mengalami kebocoran elektron. Adanya interaksi dari senyawa ROS dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) dengan DNA proses perbaikan atau replikasi akan menyebabkan terbentuknya DNA *adducts* yang mengakibatkan terjadinya mutasi sel dimana semakin banyak sel yang termutasi akan menyebabkan perkembangan sel neoplastik (Sayuti dan Yenrina, 2015).

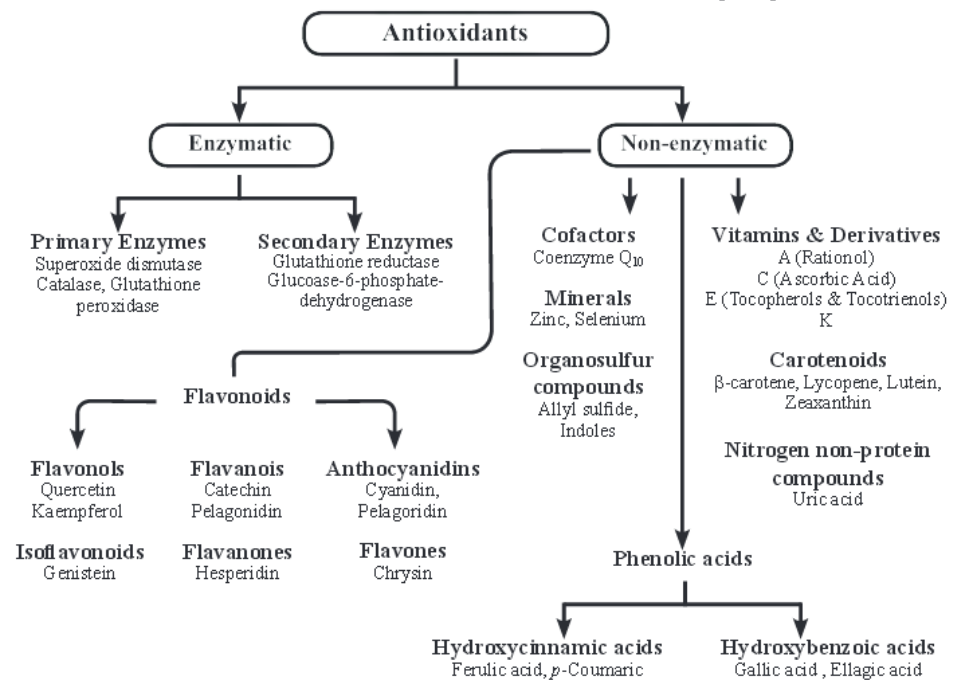
2. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat aktivitas senyawa oksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada radikal bebas atau senyawa oksidan. Atau dengan kata lain, antioksidan adalah senyawa yang dalam jumlah tertentu dapat menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Oleh karena itu senyawa antioksidan diperlukan oleh tubuh (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Ada dua jenis senyawa antioksidan yaitu antioksidan endogen dan eksogen yang didapat dari luar tubuh / makanan. Antioksidan endogen berupa enzim seperti Superoksida Dismutase (SOD) yang dapat ditemukan di dalam sitosol dan mitokondria, katalase (Cat) dan

glutathione peroxidase (Gpx). Mekanisme antioksidan endogen sebagai pertahanan tubuh yaitu radikal superoksida (O_2^-) yang berasal dari hasil reparasi dari lingkungan diubah oleh SOD menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang masih reaktif. Kemudian peroksida dikatalis oleh enzim katalase dan Gpx. Dimana enzim katalase ini menggunakan dua molekul hidrogen peroksida, satu sebagai substrat elektron donor dan satu sebagai substrat elektron akseptor sehingga akan terbentuk $2H_2O$ dan O_2 . Enzim Gpx mengkatalis destruksi H_2O dan lipid hiperoksidase di dalam eritrosit dan jaringan lainnya dengan menggunakan GSH atau glutathion tereduksi, melindungi membrane lipid dan haemoglobin dari oksidasi oleh hidrogen peroksida sehingga mencegah adanya hemolisis. GSH teroksidasi menjadi GS-S, tetapi agar GSH dapat terus tersedia untuk membantu Gpx maka GS-S yang terbentuk harus direduksi kembali oleh enzim glutathion reductase (GRed) menjadi GSH. Contoh senyawa antioksidan eksogen diantaranya yaitu vitamin C, vitamin E, Pro vitamin A, organosulfur, α -tocopherol, flavonoid, statin, niasin, dan sebagainya (Werdhasari, 2014).

Berikut ini adalah klasifikasi antioksidan:



(Carocho & Ferreira, 2013)

Gambar 1.1. Klasifikasi antioksidan

3. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas. Flavonoid terbentuk pada tumbuhan dari asam amino aromatic fenilalanin, tirosin dan malonate. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆ yaitu dua cincin aromatic yang dihubungkan oleh satuan tiga carbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988).

4. Belimbing Wuluh

a. Nama Lokal

Di Indonesia, belimbing wuluh dikenal dengan nama yang berbeda-beda disetiap daerahnya. Dalam Bahasa Indonesia dikenal sebagai belimbing wuluh. Sumatera: limeng, salimeng, asam belimbing, balimbing, malimbe, balimbingan, balimbieng. Jawa: belimbing, calincing, blimbing, blimbing wuluh, bhalimbhing bulu. Nusatenggara: blimbing buloh, limbi, balimbeng, kerbol. Sulawesi: balimbing botol, lompiat litod, lopias, lembetu, bainang. Maluku: thurela, takurela, taprera. Irian: useke (Anonim, 1985).

b. Kandungan Kimia Tanaman

Daun belimbing wuluh memiliki kandungan zat aktif yang diantaranya, saponin, tannin dan flavonoid yang termasuk kedalam senyawa fenolik (Ramadhan). Pada daun belimbing wuluh mengandung tannin, tannin yang paling dominan pada tanaman belimbing wuluh adalah tannin terkondensasi. Bunga belimbing wuluh mengandung senyawa kimia yang bersifat antibakteria seperti saponin, flavonoid dan polifenol (Ardananrudin, 2004).

Kandungan kimia dalam daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dapat dilihat pada tabel.

Tabel 2.1 Kandungan kimia daun belimbing wuluh

Kandungan	Komponen (%)
Saponin	10,0
Tanin	6,0
Sulfur	2,5
Kalium Oksalat	17,5
Perosida	1,0
Glukosid	14,5

(Ardananrudin, 2004)

c. Deskripsi Tanaman

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu spesies dalam keluarga belimbing (*Averrhoa*). Diperkirakan tanaman ini berasal dari daerah Amerika tropik. Tanaman ini tumbuh baik di Negara asalnya, sedangkan di Indonesia banyak dipelihara di pekarangan dan kadang-kadang tumbuh secara liar di ladang atau tepi hutan (Thomas, 2007).

Tanaman ini mudah sekali tumbuh dan berkembang melalui cangkok atau persemaian biji. Jika ditanam lewat biji, pada usia 3-4 tahun sudah mulai berbuah. Jumlah setahun bias mencapai 1.500 buah (Mario, 2011). Pohon belimbing wuluh bias tumbuh dengan ketinggian mencapai 5-10 m. batang utamanya pendek, berbenjol-benjol, cabangnya rendah dan sedikit (Masripah, 2009).

Klasifikasi ilmiah belimbing wuluh adalah

Kingdom : Plantae
Sub kingdom : Tracheobionta
Divisio : Magnoliophyta
Kelas : Dicotyledone
Sub kelas : Rosidae
Ordo : Geraniales
Familia : Oxalidaceae
Suku : Oxalidaceae
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *Averrhoa bilimbi* L.

(Anonim, 1985)

5. Metode Pengujian Antioksidan

a. *β-Carotene Bleaching (BCB)*

α -karoten, β -karoten, β -kriptosantin adalah karotenoid provitamin A, yang berarti dapat dikonversi di dalam tubuh menjadi retinol (vitamin A). β -karoten dapat membersihkan singlet oxygen karena adanya 9 ikatan rangkap pada rantai karbonnya. β -karoten juga bereaksi dengan senyawa radikal peroksil, pertama-tama membentuk radikal karotenoid peroksil kemudian membentuk karotenoid peroksida (Deddy, 2013). Metode β -carotene bleaching merupakan suatu metode untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam menghambat peroksidasi lipid (Tahir *et al*, 2017)

Aktivitas antioksidan dengan metode BCB ditentukan berdasarkan kemampuan sampel uji antioksidan dalam menghambat penurunan intensitas warna kuning dari β -karoten karena pengaruh radikal bebas (hidroperoksid) yang terbentuk dari oksidasi asam linoleat akibat pemanasan (Lai & Lim 2011).

b. *DPPH (1,1- Diphenl-2-pikrilhidrazil)*

Metode DPPH merupakan senyawa radikal nitrogen. DPPH akan mengambil atom hidrogen yang terdapat dalam suatu senyawa, misalnya senyawa fenol. Mekanisme terjadinya reaksi DPPH ini berlangsung melalui transfer elektron. Larutan DPPH yang berwarna ungu memberikan serapan maksimum pada 515,5 nm. Larutan DPPH ini akan mengoksidasi senyawa dalam ekstrak tanaman. Proses ini ditandai dengan memudarnya warna larutan dari ungu menjadi kuning.

c. *Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)*

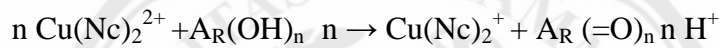
FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan

dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Halvorsen *et al*, 2002).

Prinsip dari uji FRAP adalah reaksi transfer elektron 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.

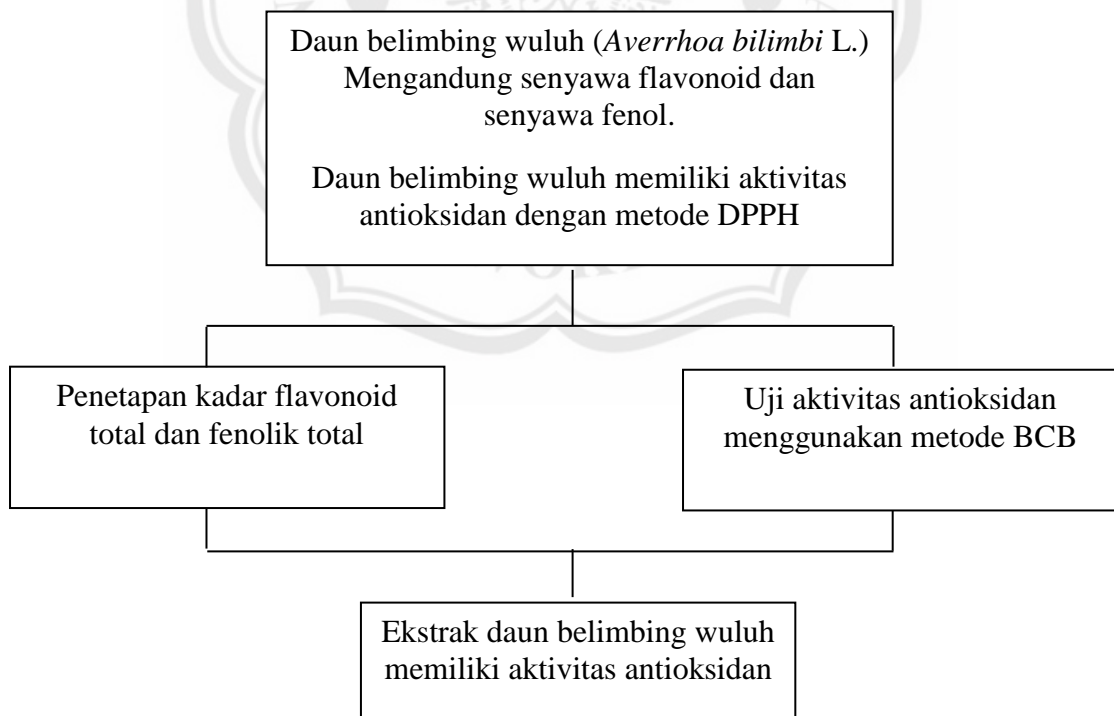
d. CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)

Metode Cuprac adalah salah satu metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dengan menggunakan bis (neocuproin) tembaga (II) $Cu(Nc)_2^{2+}$ sebagai pereaksi kromogenik. Pereaksi $Cu(Nc)_2$ yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi $Cu(Nc)_2^+$ yang berwarna kuning dengan reaksi :



(Apak R *et al.*, 2007)

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.1 Kerangka konsep penelitian

D. Hipotesis

Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang ditentukan dengan metode BCB

