

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Hasil Penelitian Terdahulu

Penelitian yang dilakukan oleh Dira (2014) mengenai uji aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol kulit buah manggis (*G. Mangostana*) dan buah asam gelugur (*Garcinia Atroviridis* Griff. Ex. T. Anders.) secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan alat spektrofotometer ultraviolet (UV) dan menggunakan allopurinol sebagai pembanding. Sampel kulit buah manggis dimaserasi dengan etanol 70% sedangkan buah asam gelugur dengan etanol 96%. Ekstrak etanol kulit buah manggis dapat menghambat 50% aktivitas enzim xantin oksidase dengan  $IC_{50}$  8,310  $\mu\text{g/mL}$ , ekstrak etanol buah asam gelugur dapat menghambat 50% aktivitas enzim xantin oksidase dengan  $IC_{50}$  15,544  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan allopurinol dapat menghambat 50% aktivitas enzim xantin oksidase dengan  $IC_{50}$  4,316  $\mu\text{g/mL}$ . Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol kulit buah manggis (*G. mangostana*) dan buah asam gelugur (*Garcinia atroviridis* Griff. ex. T. Anders.) memiliki aktivitas antihiperurisemia secara *in vitro* karena dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit manggis memiliki aktivitas antihiperurisemia.

Penelitian yang dilakukan oleh Muslichah (2013) mengenai uji aktivitas antihiperurisemia dan antiinflamasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia Pendens* Merr & Perry) dan fraksi-fraksinya terhadap tikus jantan galur wistar. Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan tikus sebagai hewan uji coba. Dari hasil penapisan fitokimia diketahui tanaman sarang semut yang mengandung senyawa kimia flavonoid dan tanin. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol sarang semut dan fraksi-fraksinya dapat menurunkan kadar asam urat serum tikus hiperurisemia secara signifikan dibanding kontrol normal dan kontrol induksi, namun efeknya masih di bawah kontrol positif allopurinol. Dari hasil

tersebut dapat disimpulkan bahwa tanaman yang mengandung flavonoid dan tanin dapat menurunkan kadar asam urat.

Penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2016) mengenai ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan kulit manggis (*G. mangostana*) sebagai sumber zat bioaktif penangkal radikal bebas dilakukan dengan menggunakan metode DPPH dan alat spektrofotometer UV-Vis. Penelitian ini memiliki tujuan untuk membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dari kulit manggis. Ekstrak etanol dari kulit buah manggis memiliki  $IC_{50}$  5,03  $\mu\text{g/mL}$ , ekstrak etil asetat dengan nilai  $IC_{50}$  41,56  $\mu\text{g/mL}$ . Fraksinasi dengan etil asetat menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 2,78  $\mu\text{g/mL}$ , dan fraksi n-heksana memiliki  $IC_{50}$  sebesar 22,33  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi kulit manggis memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Penelitian yang dilakukan oleh Izzati (2012) mengenai aktivitas antioksidan ekstrak perasan daun manggis (*G. mangostana*) berdasarkan metode DPPH (2,2 Diphenyl-1-Phycryl Hydrazil). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan kemampuan aktivitas antioksidan dari ekstrak perasan daun manggis (*G. mangostana*) dan mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan antara perasan daun manggis dengan kontrol positif menggunakan metode DPPH serta menggunakan parameter *inhibition concentration* ( $IC_{50}$ ). Aktivitas antioksidan ekstrak perasan daun manggis memiliki  $IC_{50}$  sebesar 19,3708  $\mu\text{g/mL}$  hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut memiliki penghambatan 50% aktivitas radikal bebas DPPH, dan kontrol positif vitamin E memiliki  $IC_{50}$  sebesar 2,146  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak perasan daun manggis memiliki aktivitas antioksidan.

Pada penelitian ini, peneliti menguji aktivitas antihiperurisemia dan antioksidan dari ekstrak etanol daun manggis (*G. mangostana*) beserta fraksi-fraksinya. Alasan peneliti memilih judul tersebut lantaran mengacu pada beberapa jurnal yang mengatakan bahwa kulit buah manggis memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia dan antioksidan. Sehingga peneliti ingin

menguji aktivitas yang sama dengan beberapa penelitian sebelumnya namun menggunakan bagian tanaman yang lain yaitu bagian daun dari tanaman manggis (*G.mangostana*).

## B. Tumbuhan Manggis

Di indonesia manggis disebut dengan berbagai nama lokal, seperti maggista (sumatra barat), manggus (lampung), manggu (jawa barat), dan manggusto (sulawesi utara).



Gambar 2.1. Tanaman manggis

Klasifikasi botani pohon manggis adalah sebagai berikut :

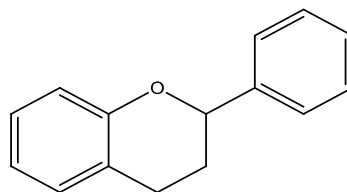
Kingdom : Plantae  
Sub kingdom : Tracheobionta  
Superdivisio : Spermatophyta  
Divisio : Magnoliphyta  
Classis : Magnoliphyta  
Subclassis : Dilleniidae  
Ordo : Malphigiales / Theales  
Famillia : Clusiaceae  
Genus : Garcinia  
Spesies : *Garcinia mangostana* L

(Steenis, 1947)

Manggis merupakan pohon dengan tinggi 6-20m. Batang tegak, batang pokok jelas, kulit batang berwarna coklat, dan memiliki getah berwarna kuning. Daun tunggal, berbentuk elips, letak berhadapan atau bersilang hadapan, permukaan mengkilat, permukaan atas berwarna hijau gelap, dan permukaan bawah berwarna hijau terang. Bunga betina tersusun 1-3 diujung batang dengan susunan menggarpu. Kelopak daun dua, daun kelopak yang kedua berwarna hijau kuning sedangkan yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, melengkung kuat, tumpul. Daun mahkota berbentuk telur terbalik, berdaging tebal, hijau kuning, tepi merah atau hampir semua merah. Buah bentuk bola tertekan, garis tengah 3,5-7 cm, ungu tua, dengan kepala putik duduk, besar dan kelopak tetap. Dinding buah tebal, berdaging, ungu, dengan getah kuning. Biji 1-3, diselimuti oleh selaput biji yang tebal berair, putih, dapat dimakan (juga biji yang gagal tumbuh sempurna). Waktu panen pada bulan Juni-Januari. Daerah asal tidak dikenal dengan pasti, sangat banyak ditanam pada pohon buah (Steenis, 1947).

### C. Kandungan Senyawa

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Izzati *et al* (2012) tanaman manggis mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C6) terikat pada suatu rantai propana (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Lenny, 2006).



Gambar 2.2. Struktur Flavonoid (Markham, 1988)

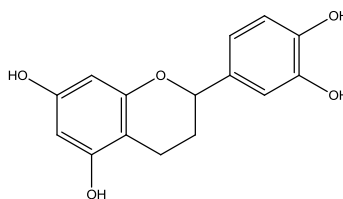
Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono, di atau triglikosida. Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol, ataupun air (Lenny, 2006).

Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa, dan ramnosa. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid pada metode Wilstater dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan terganggu oleh H<sup>+</sup> dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavonol, dan xanton (Latifah, 2015).

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang mampu mentransfer sebuah elektron atau sebuah atom hidrogen ke senyawa radikal bebas dengan menghentikan tahap awal reaksi. Oleh karena itu, flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim (Latifah, 2015).

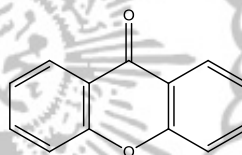
Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol dan dapat membentuk kompleks dengan protein membentuk kopolimer yang tidak larut air. Tanin terdapat pada daun dan buah yang belum matang merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat. Tanin dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Asasu, 2015).

Tanin mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti “reverse” transkriptase dan DNA topoisomerase (Malanggia, 2012).



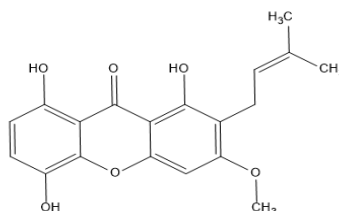
**Gambar 2.3. Struktur Senyawa Tanin (Asasu, 2015)**

Xanthone merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa polyphenolic. Xanthone sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh sebagai antioksidan, antiproliferatif, antiinflamasi dan antimikroba. Senyawa xanthone, mangostin, garsinone, flavonoid dan tannin di buah manggis merupakan senyawa bioaktif fenolik. Senyawa-senyawa ini diduga berperan dalam menentukan jumlah antioksidan di manggis. Kulit buah manggis yang mengandung senyawa xanthone memiliki fungsi antioksidan tinggi sehingga dapat menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang memicu munculnya penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, arthritis, katarak, hiperurisemia dan diabetes mellitus (Mardiana, 2012).

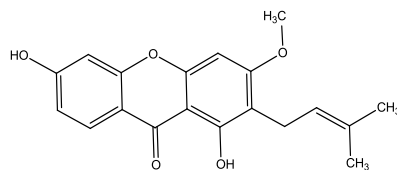


**Gambar 2.4. Struktur Senyawa Xanthone (Mardiana, 2012)**

Menurut Obolskiy (2009) daun manggis mengandung 2 senyawa xanthon yaitu 1,5,8- Trihydroxy-3 methoxy-2-(3- methylbut-2 enyl) xanthone dan 1,6- Dihydroxy -2-(2hydroxy-3- methylbut -3 enyl) - 3, 7- dimethoxy-8-(3 methylbut-2-enyl)- xanthone.



**Gambar 2.5. Struktur 1,5,8-Trihydroxy-3-methoxy-2-(3-methylbut-2-enyl) xanthone**

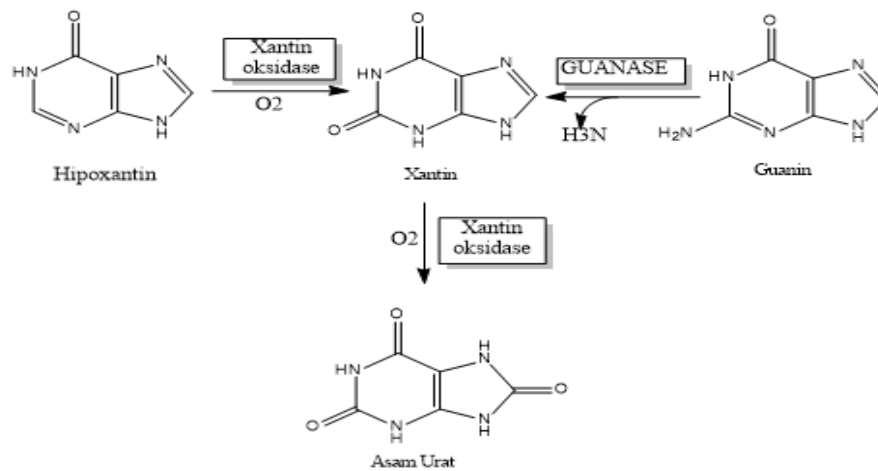


**Gambar 2.6. Struktur 1,6-Dihydroxy-2-(2-hydroxy-3-methylbut-3-enyl)-3,7-dimethoxy-8-(3-methylbut-2-enyl)-xanthone**

#### D. Asam Urat

Asam urat merupakan produk akhir dari metabolisme purin. Purin adalah molekul yang berbentuk nukleotida. Nukleotida mempunyai peranan dalam berbagai proses biokimia di dalam tubuh. Peranan nukleotida tersebut sangat penting dalam menjadi penyandi asam nukleat yang bersifat esensial dalam pemeliharaan dan pemindahan informasi genetik. Nukleotida yang paling dikenal karena peranannya adalah nukleotida purin dan pirimidin. Kedua nukleotida ini berfungsi sebagai pembentukan asam ribonukleat (RNA) dan asam deosiribonukleat (DNA).

Asam urat dibentuk dengan pemecahan purin dan dengan sintesis langsung dari 5-fosforibosil pirofosfat (5-PRPP) dan glutamin (Ganong, 1995). Manusia mengubah nukleosida purin yang utama yaitu adenosin dan guanin menjadi produk akhir asam urat yang disekresikan keluar. Adenosin pertama-tama mengalami deaminasi menjadi inosin oleh enzim adenosin deaminase. Fosforilasi ikatan N-glikosidat inosin dan guanosin, yang dikatalisasi oleh enzim nukleosida purin fosforilase, akan melepas senyawa ribosa 1-fosfat dan basa purin. Hipoksantin dan guanin selanjutnya membentuk xantin dalam reaksi yang dikatalisasi masing-masing oleh enzim xanthin oksidase dan guanase. Kemudian xantin teroksidasi menjadi asam urat dalam reaksi kedua yang dikatalisasi oleh enzim xanthin oksidase. Mekanisme reaksi dari pembentukan asam urat dapat dilihat pada gambar 2.7.



**Gambar 2.7. Pembentukan Asam Urat (Rodwell, 1997)**

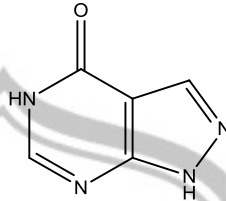
Beberapa senyawa bioaktif asal tumbuhan ketika ditambahkan ke dalam sistem reaksi enzimatik dapat berperan sebagai aktivator dan inhibitor. Sebagai aktivator senyawa bioaktif asal tumbuhan tersebut dapat meningkatkan laju reaksi pembentukan produk dan sebagai inhibitor senyawa tersebut justru dapat menyebabkan penurunan laju reaksi. Secara kimiawi, suatu inhibitor akan sulit dibedakan dari aktivator. Kedua senyawa ini dapat jelas dibedakan jika keduanya telah berinteraksi dengan enzim yang secara langsung akan mempengaruhi laju reaksinya. Ikatan inhibitor ataupun aktivator dengan enzim dapat mengubah kemampuan daya katalisatornya. Hal ini secara umum terjadi akibat adanya perubahan struktur enzim ketika suatu inhibitor ataupun aktivator berinteraksi dengannya (Yuliana, 2014).

Allopurinol memiliki afinitas puluhan kali lebih kuat terhadap enzim xantin oksidase dibandingkan xantin. Oleh karena itu, apabila dalam lingkungan terdapat inhibitor ini bersamaan dengan substrat (xantin), maka allopurinol yang akan lebih bereaksi dengan xantin oksidase membentuk produk (oksipurinol) dibandingkan dengan substratnya sendiri, sehingga efek penghambatan pembentukan asam urat dapat berlangsung terus selama masih terdapat allopurinol dalam lingkungan (Yuliana, 2014).

## E. Allopurinol

Terapi perawatan yang standar dan yang dianjurkan untuk gout adalah allopurinol, yang menurunkan kadar asam urat total dalam tubuh dengan menghambat xantin oksidase.

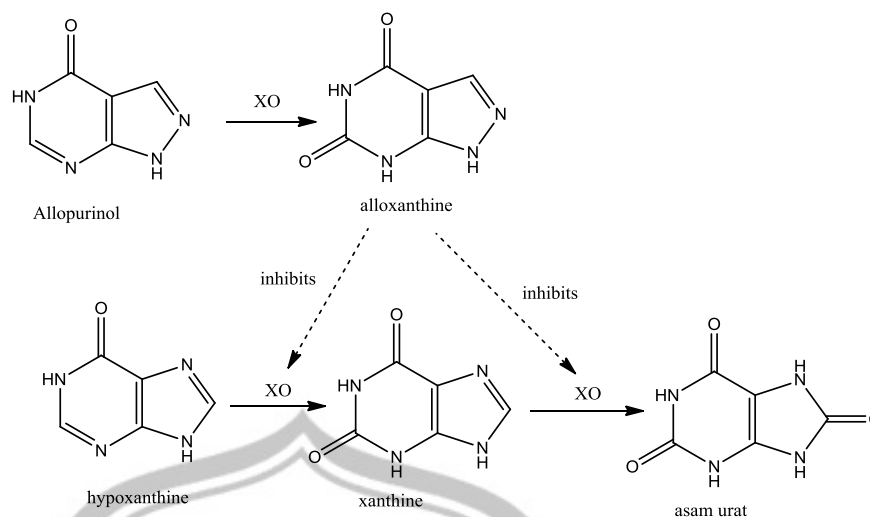
Struktur allopurinol, suatu isomer dari *hypoxantin*, diperlihatkan dalam (gambar 2.8.)



**Gambar 2.8. Struktur allopurinol (Katzung, 2007)**

Sekitar 80% allopurinol diabsorpsi setelah pemberian peroral dan memiliki waktu paruh dalam serum sebesar 1-2 jam. Seperti asam urat, allopurinol sendiri di metabolisme oleh *xantin oksidase*, tetapi senyawa hasilnya, yakni *aloxantin*, tetap memiliki kemampuan untuk menghambat *xantin oksidase* dan mempunyai durasi kerja yang cukup lama sehingga allopurinol cukup diberikan hanya sekali sehari (Katzung, 2007).

Purin dalam diet bukanlah sumber asam urat yang penting. Purin dalam jumlah yang penting secara kuantitatif dibentuk dalam asam amino, format, dan karbondioksida dalam tubuh. Purin ribonukleutida tersebut, yang tidak tergabung ke dalam asam nukleat, dikonversi menjadi xantin atau hipoxantin dan di oksidasi menjadi asam urat. Melalui penghambatan xanthin oksidase maka hipoxantin dan xantin diekskresi lebih banyak dalam urin sehingga kadar asam urat dalam darah dan urin menurun (Katzung, 2007). Mekanisme penghambatan xanthin oksidase dapat dilihat pada (gambar 2.9).



**Gambar 2.9. Mekanisme Penghambatan Allopurinol Terhadap enzim Xanthin Oksidase Pada Pembentukan Asam Urat (Tjay dan Raharja, 2002)**

## F. Radikal Bebas

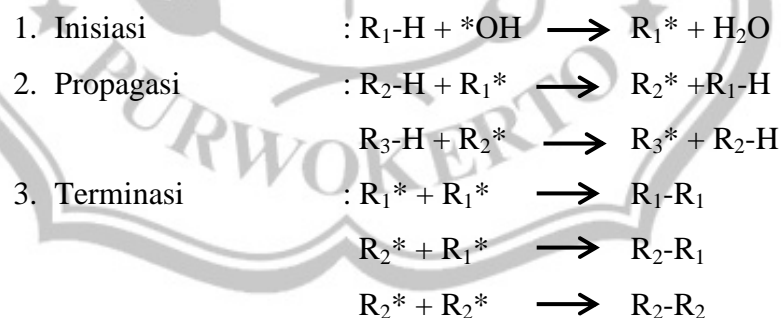
Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas yang ada dalam tubuh dapat mengalami serangkaian reaksi yang berlangsung terus menerus hingga radikal bebas hilang dari dalam tubuh. Hilangnya radikal bebas dari dalam tubuh dikarenakan bereaksi dengan radikal bebas lain hingga menjadi suatu senyawa yang stabil, atau hilangnya bisa juga karena sistem antioksidan (Winarsi, 2007).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada jaringan biologis, kerusakan tersebut dapat menyebabkan penyakit kronis, seperti iskemia, katarak, kanker, diabetes melitus, penuaan, dan jantung koroner. Radikal bebas terbentuk melalui dua cara, yaitu secara endogen dan eksogen. Secara endogen, radikal bebas dihasilkan melalui reaksi biokimia di dalam tubuh, contohnya oksidasi enzimatik, fagositosis, transport elektron, dan oksidasi logam transisi melalui iskemik. Secara eksogen, radikal bebas dihasilkan dari lingkungan sekitar, seperti polusi udara, bahan tambahan pangan, dan radiasi ultraviolet (UV). Radikal eksogen tersebut, selanjutnya

akan masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan absorpsi kulit (Winarsi, 2007).

Radikal bebas diproduksi secara endogen di dalam sel oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, peroksisom, retikulum endoplasma, dan inti sel. Radikal bebas yang dihasilkan dalam tubuh, biasanya terdiri dari spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS). Contoh turunan kedua spesies tersebut, diantaranya radikal superoksida ( $O_2^-$ ), hidroksil (OH), peroksil (ROO), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), singlet Oksigen ( $^1O_2$ ), nitrit oksida (NO), peroksi nitrit (NOO), dan asam hipoklorit (HOCl). Atom atau molekul dengan elektron bebas ini, dapat digunakan untuk menghasilkan tenaga dan beberapa fungsi fisiologis seperti kemampuan untuk membunuh virus dan bakteri (Winarsi, 2007).

Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas terdiri atas tiga tahap, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi, merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas. Tahap kedua adalah propagasi, yaitu perubahan suatu molekul radikal bebas menjadi radikal bentuk lain (pembentukan radikal bebas baru). Tahap yang terakhir adalah terminasi tahap dimana terjadi penggabungan dua molekul radikal bebas dan membentuk produk yang stabil. Mekanisme reaksi ketiga tahapan tersebut dapat ditulis sebagai berikut:



(Winarsi, 2007)

## G. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat

oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsi,2007).

Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk oleh tubuh. Bila senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga menyebabkan kerusakan-kerusakan yang disebut stres oksidatif. Namun demikian, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan 3 cara berikut :

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
3. Memperbaiki (repair) kerusakan oleh radikal bebas.

Tidak selamanya senyawa oksigen reaktif yang terdapat di dalam tubuh itu merugikan. Pada kondisi-kondisi tertentu keberadaannya sangat dibutuhkan. Salah satu contohnya yaitu untuk membunuh bakteri yang masuk didalam tubuh. Oleh sebab itu, keberadaannya harus dikendalikan oleh sistem antioksidan dalam tubuh.

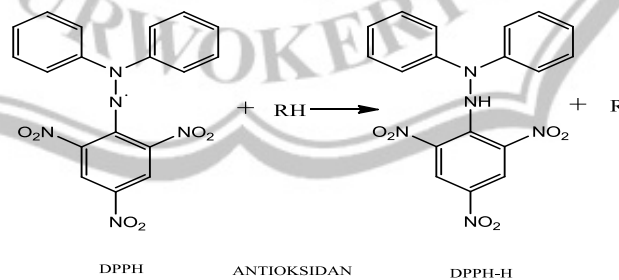
Antioksidan dapat berupa vitamin (misalnya vitamin E, C, A dan  $\beta$ -karoten), enzim (misalnya superoksida dismutase atau SOD, katalase, glutation peroksidase) dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin, dan lain-lain). Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama (primer) terhadap kondisi stres oksidatif yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru.

Disamping antioksidan yang bersifat enzimatis, ada juga antioksidan non enzimatis yang dapat berupa senyawa nutrisi maupun non nutrisi. Kedua kelompok antioksidan non enzimatis ini disebut juga antioksidan sekunder karena dapat diperoleh dari asupan bahan makanan, seperti vitamin C, E, A, dan  $\beta$ -karoten. Glutation, asam urat, bilirubin, albumin, dan flavonoid juga termasuk dalam kelompok ini. Senyawa-senyawa ini berfungsi menangkap senyawa oksidan serta mencegah terjadinya reaksi berantai (Winarsi, 2007).

## H. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Menggunakan Metode DPPH

Pengukuran aktivitas penangkap radikal bebas dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain dengan metode lipid peroksida, tiobarbiturat, malonaldehid, 8-karoten bleaching, DPPH, dan tiosianat. Metode DPPH adalah salah satu yang paling populer karena praktis dan sensitif (Molyneux, 2004). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan apabila digunakan sebagai pereaksi cukup dilarutkan. Senyawa ini jika disimpan dalam keadaan dan kondisi penyimpanan yang baik akan tetap stabil selama bertahun-tahun (Winarsi, 2007).

Prinsip dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah terjadinya perubahan warna ungu menjadi pudar dan kuning. Perubahan warna tersebut dikarenakan adanya penurunan absorptivitas molar dari molekul DPPH. Perubahan warna tersebut berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya ikatan antara elektron DPPH dengan atom hydrogen yang mengindikasikan adanya peningkatan kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang. Dengan demikian, semakin besar konsentrasi larutan maka semakin memudar warna larutan dan absorbansinya juga semakin kecil (Koleva *et al*, 2002).



PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS

**Ungu Tua + Penangkapan Radikal Bebas → Ungu Muda**  
**Gambar 2.10. Mekanisme Penangkapan Radikal DPPH Oleh Antioksidan**  
**(Prakash *Et Al.*, 2001)**

**Keterangan:** Larutan DPPH berwarna ungu tua bertemu dengan senyawa antioksidan akan memudahkan warna DPPH menjadi ungu muda. Hal ini karena elektron radikal pada DPPH di terminasi dengan suatu senyawa antioksidan.

Pengukuran aktivitas antioksidan ditandai dengan penurunan serapan larutan DPPH yang disebabkan adanya penambahan sampel. Untuk memperoleh nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel (ekstrak) tersebut dihitung sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A \text{ kontrol} - A \text{ sampel})}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

% inhibisi = Presentase hambat antioksidan

A kontrol = Absorbansi DPPH

A sampel = Absorbansi larutan uji

Kemudian hasil yang diperoleh dimasukan kedalam persamaan regresi dengan konsentrasi sampel atau ekstrak ( $\mu\text{g/mL}$ ) sebagai basis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai  $\text{IC}_{50}$  dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% dengan  $Y = bx + a$  (Zuhra *et al.*, 2008).

## I. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1995). Adapun penggolongan simplisia dibedakan menjadi: simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa bahan tambahan utuh bagian tanaman atau eksudat tumbuhan. Eksudat tanaman didefinisikan sebagai isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1979).

## J. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Ekstrak sebagai terminologi umum dapat dikelompokkan dalam:

### 1. Ekstrak air

Menggunakan pelarut air sebagai cairan pengekstraksi. Hasil ekstraksi dalam bentuk ekstrak ini dapat digunakan langsung atau digunakan setelah waktu tertentu. Pelarut air masih luas digunakan karena caranya mudah untuk betas komersial, lazimnya digunakan air dengan kandungan alkohol rendah. Hasil penyarian dikeringkan dengan cara semprot kering. Hasil ekstrak yang telah diproses semprot kering ini, mudah larut dalam air dan dapat dimanfaatkan untuk sediaan dalam bentuk cairan. Hanya saja perlu diperhatikan ekstrak kering yang dihasilkan sering bersifat higroskopis, dan presentase ekstrak kering terhadap simplisia harus jelas untuk dapat dosis obat secara akurat (Agoes, 2009).

### 2. Tinktura

Tinktura adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara maserasi atau perkolasi simplisia. Sediaan ini merupakan ekstrak yang dibuat dari simplisia tanaman obat dengan penyari berbagai konsentrasi etanol dengan bahan tambahan sedemikian rupa (Agoes, 2009).

### 3. Ekstrak cair

Seperti halnya tinktura, ekstrak cair merupakan sediaan cair. Perbedaannya adalah ekstrak lebih kental, sesuai dengan ketentuan farmakope. Menurut farmakope Indonesia edisi III, hasil akhir ekstrak cair dengan penyari etanol harus didiamkan di tempat yang sejuk selama 1 bulan, kemudian disaring sambil mencegah penguapan (untuk mengendapkan partikel yang tidak larut) (Agoes, 2009).

#### 4. Ekstrak encer

Dikenal sebagai ekstrak tenuis, dibuat seperti halnya ekstrak cair, hanya konsentrasi simplisia yang disari dengan konsentrasi ekstrak (Agoes, 2009).

#### 5. Ekstrak kental

Pada suhu kamar, apabila hangat tidak berbentuk cair. Ekstrak diperoleh dari ekstrak cair yang diuapkan larutan penyaringnya secara hati-hati. Ekstrak kental merupakan masa kental yang mengandung bermacam konsentrasi sisa kelembaban dan kekuatan bahan berkhasiat serta dapat disesuaikan dengan penambahan bahan aktif alam atau dengan penambahan sejumlah bahan inert, seperti dekstrin, laktosa dan sebagainya. Karena kestabilannya rendah dan mudah di tumbuhi mikroorganismenya, pemakaian ekstrak kental secara luas telah digantikan oleh ekstrak kering (Agoes, 2009).

#### 6. Ekstrak kering

Ekstrak kering adalah ekstrak tanaman yang diperoleh secara pemekatan dan pengeringan ekstrak cair di bawah kondisi lemah (suhu dan tekanan rendah). Konsentrasi bahan aktif dalam sediaan akhir dapat disesuaikan dengan penambahan bahan inert (Agoes, 2009).

### **K. Penyarian**

Penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan bahan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Ansel, 1989).

Zat-zat yang tersari dalam sel-sel bagian tumbuhan umumnya dalam keadaan kering. Cairan penyari masuk kedalam sel-sel dari bahan dan zat yang tersari larut dalam cairan penyari, setelah itu larutan yang mengandung zat yang tersari dipisahkan simplisia yang disari. Penyariannya akan terjadi lebih cepat terjadi apabila bahan dasar dalam keadaan halus. Salah satu jenis metode yang sering digunakan adalah maserasi.

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sebungkus simplisia dalam cairan penyari.

Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terjadi secara beruang sampai konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel menjadi seimbang. Maserasi digunakan untuk simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirok dan lain-lain (Depkes RI, 1986).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaan lama dan penyarian kurang sempurna (Depkes RI, 1986). Maserasi dapat dilakukan modifikasi dengan beberapa cara diantaranya :

1. Digesti

Digesti merupakan cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah pada suhu 40-50° C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap panas.

2. Maserasi dengan mesin pengaduk

Cara ini dengan menggunakan mesin pengaduk berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat 6-24 jam.

3. Remaserasi

Cairan yang digunakan sebagai penyari dibagi menjadi 2. Seluruh serbuk simplisia di maserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendapkan, tuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

#### **L. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan fisika-kimia, lapisan yang memisahkan yang terdiri atas bahan yang berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah plat atau lapisan diletakkan di dalam bejana tertutup rapat berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak) pemisahan

terjadi dalam perambatan kapiler (pengembangan) selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus dideteksi atau di tampakkan (Stahl, 1985).

Penyerapan yang umum adalah silika gel, alumunium oksida, selulosa, dan turunannya, polamid, dan lain-lain. Kebanyakan penyerap yang digunakan adalah silika gel, fase gerak adalah medium yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Pemilihan fase gerak tergantung dari sifat pelarut dan kekuatan elusi. Pengembangan adalah proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembang merambat naik dalam lapisan, terdapat berbagai kemungkinan untuk deteksi senyawa tidak berwarna pada kromatogram (Stahl, 1985).

Identifikasi dari senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis dapat dilakukan dengan pereaksi kimia, pereaksi warna dan menggunakan harga Rf (Stahl, 1985).

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,00-1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal, sedangkan hrf dikalikan faktor 100 (h) menghasilkan nilai berjarak 0-100 (Stahl, 1985). Adapun keuntungan dari kromatografi lapis tipis yaitu membutuhkan penyerap dan cuplikan dalam jumlah yang sedikit. Noda- noda yang terpisah dilokalisir pada pelat pada lembara kertas, bila dibandingkan dengan kromatografi kertas membutuhkan waktu yang lebih cepat serta pemisahan yang lebih baik (Stahl, 1985).

#### **M. Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm (Gholib & Rohman, 2007).

Spektrofotometri merupakan metode untuk analisis baik kuantitatif maupun kualitatif. Prinsip dari pembacaan spektrofotometri adalah jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Suatu senyawa dapat dideteksi dengan spektrofotometri adalah jik mempunyai gugus

kromofor. Gugus aoksokrom adalah gugus fungsi yang memiliki elektron non bonding (pasangan elektron bebas) dan tidak mengabsorpsi radiasi pada panjang gelombang di atas 200 nm. Kromofor merupakan semua gugus atau atom dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar ultraviolet dan sinar tampak. Pada senyawa kompleks akan mempunyai serapan pada panjang gelombang yang lebih panjang karena energi radiasi yang dibutuhkan oleh senyawa tersebut lebih kecil dan akan terbaca pada panjang gelombang lebih panjang. Maka senyawa kompleks terbaca pada panjang gelombang sinar tampak (Gholib & Rohman, 2007).

Pada spektrofotometri berlaku hukum lambert-beer yang menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. Secara matematis dapat ditulis sebagai berikut :

$$A = a.b.c$$

Dengan :

A = absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

(Gholib & Rohman, 2007)

Absorptivitas molar (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas molar tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi. Dalam hukum lambert-beer berlaku syarat sebagai berikut (Gholib & Rohman, 2007):

1. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
2. Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama.
3. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
4. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforesensi.

Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri uv-vis terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometri visible karena senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang berwarna. Berikut adalah tahapan-tahapan yang harus diperhatikan (Gholib & Rohman, 2007):

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Hal ini perlu dilakukan bila senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu. Pereaksi yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan diantaranya adalah:

- a. Reaksinya selektif dan sensitif.
- b. Reaksinya cepat, kuantitatif, dan reproduksibel.
- c. Hasil reaksi stabil dalam jangka waktu yang lama.

2. Waktu operasional

Cara ini biasanya digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

3. Pemilihan Panjang Gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Pemilihan panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

4. Pembuatan Kurva Baku

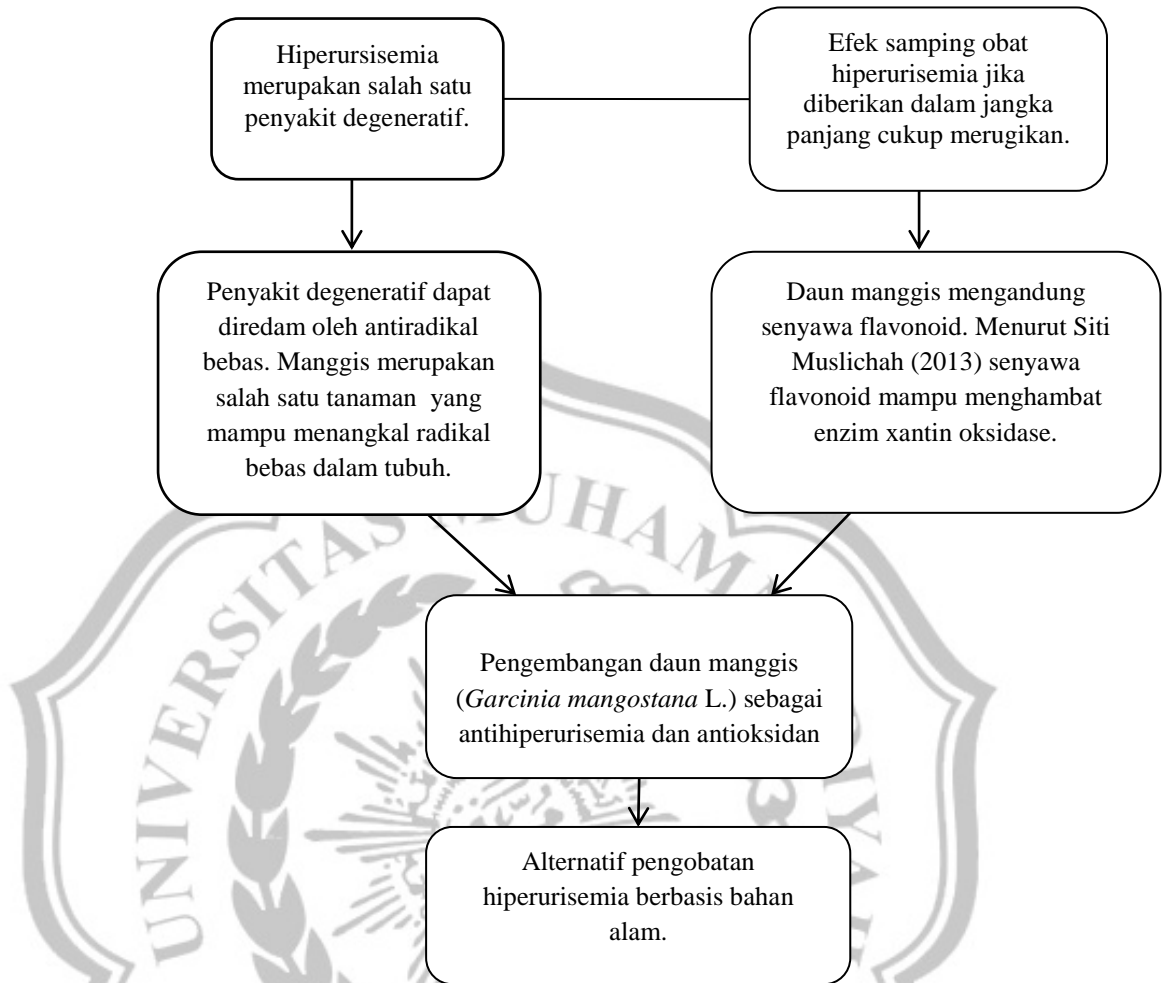
Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi ( $y$ ) dengan konsentrasi ( $x$ ).

5. Pembacaan Absorbansi Sampel atau Cuplikan

Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik).



## N. Kerangka konsep



Gambar 2. 11. Kerangka Konsep

## O. Hipotesis

Berdasarkan data-data penelitian yang ada ekstrak daun manggis, fraksi diklorometana dan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas menurunkan kadar asam urat serta menangkal radikal bebas.