

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hasil Penelitian Terdahulu

Hasil penelitian Willy terza, dkk (2006) menunjukkan bahwa fraksi kloroform daun mangkokaan positif memiliki aktivitas antioksidan menggunakan pereaksi DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 19,58 ppm. Kemampuan senyawa flavonoid sebagai antioksidan juga telah dibuktikan melalui penelitiannya yang diketahui bahwa daun mangkokaan positif memiliki aktivitas antioksidan karena diduga mengandung flavonoid jenis isoflavon, flavonol, dan flavanol.

Daun mangkokaan mengandung kalsium oksalat, peroksidase, amigdalina, fosfor, besi, lemak, protein, vitamin A, B1, C, saponin, tannin dan flavonoid. Jenis flavonoid yang terkandung di dalam daun mangkokaan adalah flavonol (kuersetin, kaempferol dan mirisetin) dan flavon (luteolin dan apigenin) yang diduga memiliki aktivitas antioksidan (Eden *et al.*, 2006). Ekstrak etanol daun mangkokaan dengan suhu pengeringan $40^{\circ}C$ memiliki nilai ES_{50} sebesar $(1,75 \pm 0,058)$ mg/ml, nilai tersebut menunjukkan bahwa Ekstrak etanol daun mangkokaan dengan suhu pengeringan $40^{\circ}C$ memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol daun mangkokaan yang dikeringkan pada suhu $50^{\circ}C$ dan $60^{\circ}C$. Namun demikian potensi sebagai antioksidan sangat lemah jika dibandingkan dengan kuersetin (Farida *et al.*, 2017).

Hasil penelitian terdahulu mengenai pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas menunjukkan rendemen tertinggi terdapat pada ekstraksi dengan metode sokletasi, karena pemanasan dapat meningkatkan kemampuan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal. Metode juga memiliki pengaruh terhadap aktivitas penangkal radikal bebas. Metode sokletasi memiliki aktivitas penangkal radikal bebas yang tinggi pada konsentrasi 50 mg/L (85,165%) dan 100 mg/L (92,310%)

dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi serta perkolasi (Mokoginta *et al.*, 2013)

2.2 Landasan Teori

A. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul atau senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang menjadikannya sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan yang baru dengan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya, sehingga radikal bebas mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak, maupun DNA) dalam tubuh. (Najihudin *et al.*, 2017). Radikal bebas berasal dari luar tubuh disebabkan oleh beberapa faktor, seperti faktor lingkungan, kebiasaan merokok, penggunaan pestisida pada makanan, polusi, radiasi dan sinar ultraviolet matahari antara pukul 10.00–15.00. Radikal bebas juga dapat berasal dari dalam tubuh yang merupakan hasil dari proses metabolisme. Reaksi inflamasi maupun pada setiap respirasi di mitokondria akan menghasilkan oksidan. Kelebihan gizi juga merupakan faktor pemicu internal. Hal ini karena saat dimetabolisme, disamping energi juga akan dihasilkan radikal bebas (Ardhie *et al.*, 2011)

Jenis-jenis radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh dan radikal bebas dari lingkungan berupa:

1. *Reactive Oxygen Spesies (ROS)*

Terdiri dari radikal bebas : Superoksida anion (O_2^-), hidroksil (OH), alkoksil (RO), peroksil (RO_2), serta senyawa bukan radikal yang berfungsi sebagai pengoksidasi atau senyawa yang mudah mengalami perubahan senyawa radikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon (O_3) dan $HOCl$.

2. *Reactive Nitrogen Spesies (RNS)*

Terdiri dari radikal bebas : nitrit (NO_2), Nitrat (NO_3), dan senyawa bukan radikal seperti HNO_2 dan N_2O_4 Produksi berlebih dari NO dapat menyebabkan stroke (Simanjuntak, 2012).

Akibat pengambilan elektron dari komponen lipid, protein, dan DNA, ROS dapat mengakibatkan disfungsi sel. Pada saat sel tubuh kehilangan elektron, maka sel tersebut juga akan menjadi radikal bebas yang akan memulai rangkaian proses serupa berikutnya. Hal ini akan berujung pada kerusakan sel termasuk penuaan kulit (Ardhie *et al.*, 2011).

Tahapan pembentukan radikal bebas secara umum melalui 3 tahapan reaksi, yaitu : pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir (terminasi) dengan mekanisme kerja sebagai berikut: (Simanjuntak, 2012)

1. Tahap inisiasi : Merupakan tahapan awal terbentuknya radikal bebas yang diproduksi oleh beberapa proses. Pada tahap inisiasi asam lemak (RH) bereaksi dengan oksigen triplet dan membentuk radikal lemak (R^*) dan radikal peroksida (HOO^*) dengan inisiator cahaya atau panas.
2. Tahap propagasi : Merupakan awal pemanjangan rantai radikal atau reaksi, dimana radikal-radikal bebas akan diubah menjadi radikal-radikal yang lain. Pada tahap ini terjadi oksigenasi radikal lemak (R^*) membentuk radikal peroksida (ROO^*). Proses oksigenasi terjadi sangat cepat dengan aktivitas energi yang hampir mendekati nol.
3. Tahap terminasi : Senyawa radikal yang bereaksi dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah. Pada tahap ini akan terbentuk spesies non radikal karena radikal bebas yang bereaksi satu sama lain, sedangkan hidroperoksida akan terdekomposisi menjadi produk alkohol, asam keton dan substrat lain yang lebih stabil.

B. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Najihudin *et al.*, 2017). Berdasarkan

mekanismenya, antioksidan dapat dibedakan menjadi 3 yaitu : (Ardhie *et al.*, 2011)

1. Mekanisme pertahanan antioksidan (AO) primer/chain breaking/scavenger antioxidants

Bekerja dengan menetralkan radikal bebas dengan mendonasikan satu elektronnya. Molekul AO yang telah kehilangan 1 elektronnya akan menjadi radikal bebas yang baru, namun dianggap relatif stabil atau akan dinetralkan oleh AO lainnya.

2. Mekanisme pertahanan AO sekunder/preventive antioxidants

Bekerja dengan mengikat logam, menyingkirkan berbagai logam transisi pemicu ROS dan menyingkirkan ROS.

3. Mekanisme pertahanan tersier

Dilakukan untuk mencegah penumpukan biomolekul yang telah rusak agar tidak menimbulkan kerusakan lebih lanjut.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi 2 yakni antioksidan alami dan antioksidan sintetis (Nurulita *et al.*, 2019). Antioksidan alami yaitu suatu senyawa yang secara alami terdapat dalam tubuh dan digunakan sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal maupun yang berasal dari luar asupan tubuh. Antioksidan sintetis merupakan antioksidan yang disintesis secara kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetis yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) dan tokoferol. Sedangkan antioksidan alami dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, dan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan. Antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dari golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain- lain (Simanjuntak, 2012). Senyawa-senyawa fenolik telah

dilaporkan memiliki aktifitas antioksidan karena sifat-sifat redoksnya. Senyawa fenolik beraksi sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, oksigen singlet dan sebagai pengkelat logam yang potensial (Rohman *et al.*, 2007).

C. Daun Mangkokan

Daun mangkokan (*Polyscias scutellaria* (Burm.f) Forsberg) merupakan salah satu jenis tanaman yang berkhasiat bagi kesehatan. Di beberapa daerah, daun mangkokan dikenal dengan nama yang berbeda-beda, diantaranya godong mangkokan (Jawa), mamanan (Sunda), puring (Madura), mangko-mangko (Makasar), papeda (Ambon) *saucer leaf, shell leaf* (Inggris). Daun mangkokan sendiri memiliki nama sinonim *Polyscias Scutellaria* (Burm.f).

Taksonomi daun mangkokan (*Polyscias scutellaria* (Burm.f) Forsberg)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Traecheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Apiales
Family	: Araliaceae
Genus	: Polyscias
Spesies	: (<i>Polyscias scutellaria</i> (Burm.f) Forsberg).



Gambar 2.1 Tanaman Mangkokan (koleksi pribadi)

Ciri spesifik tanaman ini adalah daun tunggal berwarna hijau tua dengan urat daun yang terlihat jelas, mempunyai pangkal daun terbelah, tepi bergerigi, diameter 6-12 cm, pertulangan menyirip, bertangkai, agak tebal dan mempunyai bentuk daun bulat dengan tepi menekuk ke atas sehingga menyerupai mangkuk. Daun mangkukan dapat tumbuh pada ketinggian 1-200 meter di atas permukaan laut, tumbuh dengan tinggi 1-3 meter. Memiliki batang berkayu berbentuk bulat, panjang dan lurus. Daun mangkukan (*Polyscias scutellaria* (Burm.f) Forsberg) dimanfaatkan masyarakat sebagai tanaman hias atau pagar yang tumbuh liar. Tanaman tersebut belum digunakan secara maksimal karena masyarakat belum mengetahui manfaat dan kegunaannya sebagai tanaman obat (Novitasari and Adawiyah, 2018).

Daun mangkukan mengandung kalsium oksalat, peroksidase, amigdalin, fosfor, besi, lemak, protein, vitamin A, B1, C, saponin, tannin dan flavonoid. Jenis flavonoid yang terkandung di dalam daun mangkukan adalah flavonol (kuersetin, kaempferol dan mirisetin) dan flavon (luteolin dan apigenin) yang diduga memiliki aktivitas antioksidan (Eden *et al.*, 2006). Selain itu, bagian akar dan daun tanaman mangkukan dapat digunakan sebagai peluruh kencing (diuretik), anti radang, anti inflamasi, radang payudara, pembengkakan dan melancarkan pengeluaran ASI, menanggulangi masalah rambut rontok, bau badan, dan luka (Hanum and Ardiansyah, 2017)

D. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia hewani atau nabati menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1986).

Ekstraksi suatu tanaman obat adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat (Depkes RI, 2000).

Macam-macam ekstraksi :

1. Maserasi

Maserasi adalah penyarian dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Digunakan untuk menyari zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengambang dalam penyari. Contoh cairan penyari yaitu air, etanol, air – etanol (Depkes RI, 2000).

2. Infudasi

Infundasi adalah proses penyarian yang digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infundasi dilakukan dengan cara menambahkan serbuk dengan air secukupnya dalam penangas air selama 15 menit dihitung mulai suhu didalam panci mencapai 90°C sambil sesekali diaduk, infus disaring sewaktu masih panas dengan menggunakan kain flanel. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh bakteri dan jamur (Depkes RI, 1986).

3. Sokletasi

Soklet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes RI, 1986).

4. Perkolasi

Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes, secara umum dapat dinyatakan sebagai proses dimana obat yang sudah halus diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewatkan perlahan lahan melalui obat dalam suatu kolom. Obat yang dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus yang disebut perkolator, dan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Ansel, 1989).

E. Senyawa Fenolik dan Flavonoid sebagai Antioksidan

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respons terhadap stres lingkungan. Senyawa fenolik berfungsi untuk melindungi kulit dari sinar UV-B serta melindungi DNA dari dimerisasi dan

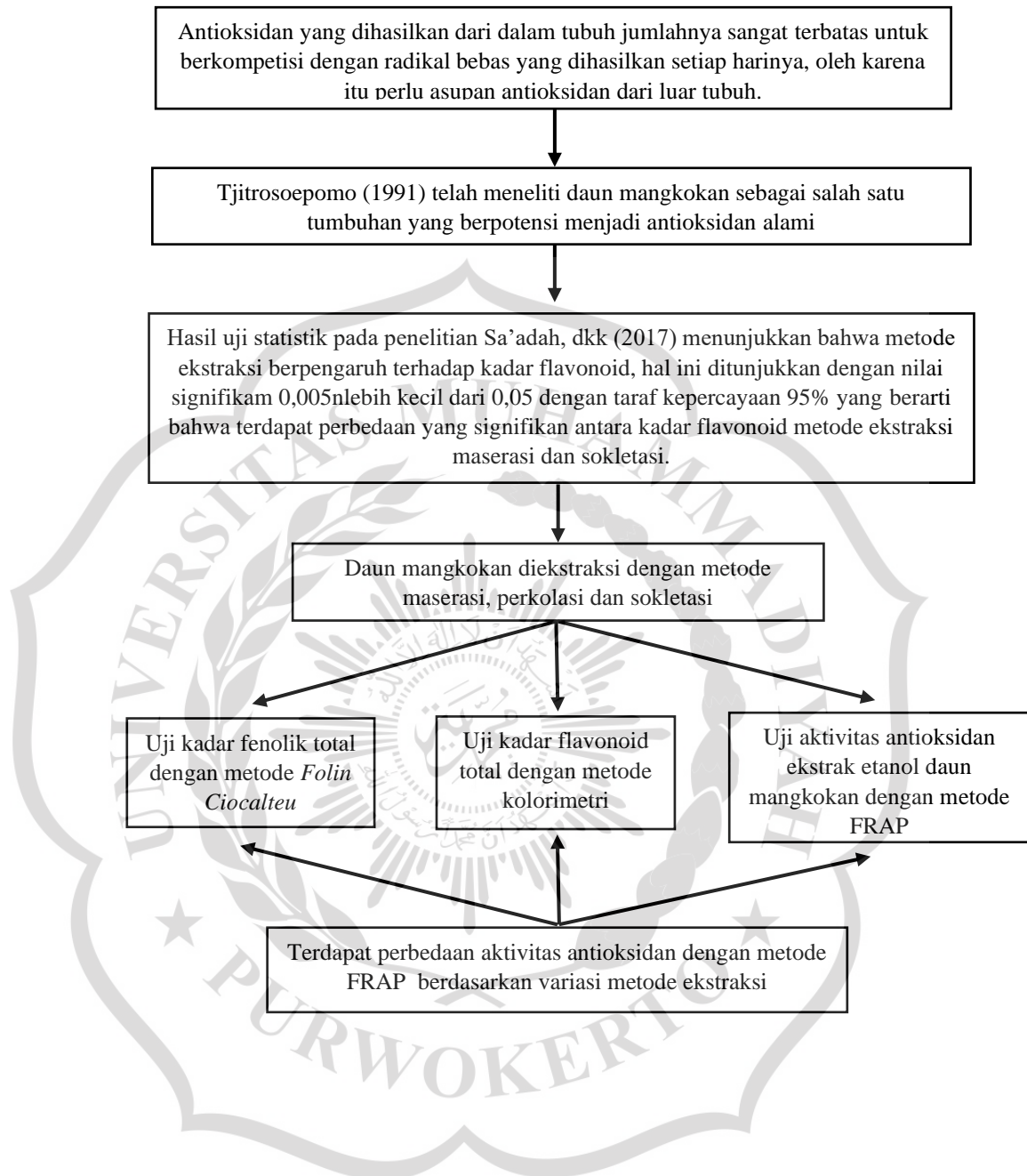
kerusakan sehingga mengurangi kematian sel. Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa fenolik. Umumnya setiap tumbuhan mengandung satu atau lebih senyawa flavonoid dan memiliki kandungan flavonoid yang khas. Flavonoid terdapat hampir di semua bagian tumbuhan, seperti daun, akar, kulit tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meningkatkan pertahanan diri dari penyakit yang diinduksi oleh radikal bebas (Hanin and Pratiwi, 2017).

Aktivitas antioksidan yang berasal dari tanaman seringkali dihubungkan dengan kandungan fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena sifat-sifat redoksnya. Senyawa fenolik dapat berperan sebagai donor hidrogen kepada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal bebas yang lebih stabil karena terjadi resonansi pada cincin benzennya, radikal bebas juga berenergi rendah karena berasal dari senyawa fenolik yang kehilangan atom hidrogen (Rohman *et al.*, 2007).

F. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Metode FRAP berdasarkan pada reaksi reduksi dalam suasana asam terhadap senyawa kompleks Fe^{3+} (Kalium heksasianoferrat) yang berwarna kuning menjadi senyawa kompleks Fe^{2+} yang berwarna hijau kebiruan oleh antioksidan pada suasana asam (Maesaroh *et al.*, 2018). Semakin pekat warna hijau yang terbentuk mengindikasikan terbentuknya ion Fe^{2+} yang semakin banyak dan menyebabkan kenaikan pada nilai absorbansi yang dapat menunjukkan potensi antioksidan dari sampel yang diuji (Tahir *et al.*, 2016).

G. Kerangka Konsep



H. Hipotesis

Berdasarkan penelitian terdahulu tentang aktivitas antioksidan ekstrak daun mangkoka yang diperoleh dengan metode maserasi menunjukkan adanya kemampuan menghambat radikal bebas. Hasil uji statistik pada penelitian Sa'adah, dkk (2017) menunjukkan bahwa metode ekstraksi berpengaruh terhadap kadar flavonoid, hal ini ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,005 lebih kecil dari 0,05 dengan taraf kepercayaan 95% yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid metode ekstraksi maserasi dan sokletasi, sehingga dapat ditarik hipotesis bahwa adanya variasi metode ekstraksi dapat mempengaruhi kadar fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan daun mangkoka. Pada penelitian ini dilakukan uji kadar fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan daun mangkoka menggunakan metode FRAP dengan variasi metode ekstraksi.

