

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang dalam konsentrasi rendah sudah dapat menghambat atau menangkal proses oksidasi dan juga merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Vaya dan Aviram, 2001; Winarsi, 2007). Antioksidan dibutuhkan untuk menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas atau menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan biomolekul seperti DNA, protein, dan lipoprotein didalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit dan penyakit degeneratif (Alfira, 2014).

Antioksidan dapat bersumber dari zat-zat sintetis atau zat-zat alami hasil isolasi. Adanya antioksidan alami ataupun sintetis dapat menghambat proses oksidasi lipid, mencegah kerusakan, dan perubahan degradasi komponen organik dalam bahan makanan. Antioksidan sintesis yang umum digunakan adalah *butylated hydroxytoluen* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA), *tertbutylhydroxyquinone* (TBHQ), asam galat dan propil galat. Antioksidan alami dapat diperoleh dari sayuran, buah-buahan, kacang-kacangan dan tanaman lainnya yang mengandung antioksidan bervitamin (vitamin A, C, dan E), asam-asam fenolat (asam ferulat, asam klorogerat, asam elagat, dan asam kafeat) dan senyawa flavonoid seperti kuersetin, mirisetin, apigenin, luteolin, dan kaempferol (Rohdiana, 2001).

Antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik contohnya : *superoksid dismutase*, *catalase*, *gluthathione peroksidase*. Sedangkan antioksidan non enzimatik adalah kofaktor enzim antioksidan, penghambat enzim

oksidatif, pembentuk khelat logam transisi, dan penangkap radikal bebas (Huang, et al 2005).

B. Radikal Bebas

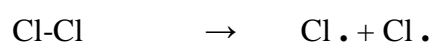
Radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal dapat berasal dari atom hydrogen, molekul oksigen, atau ion logam transisi. Senyawa radikal bebas sangat reaktif dan berusaha mencari pasangan elektron agar menjadi stabil. Radikal dapat terbentuk secara endogen dan eksogen. Radikal endogen terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolisme normal di dalam tubuh. Sedangkan radikal eksogen berasal dari bahan pencemar yang masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan penyerapan kulit (Alfira, 2014).

Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan misalnya, memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam. Dalam jumlah berlebih mengakibatkan stress oksidatif. Keadaan ini dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh. Oksigen reaktif dapat merugikan molekul dalam sel, sehingga dapat menghancurkan membran sel, asam nukleat dan protein. Peristiwa ini dapat mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit lain seperti penyakit jantung dan kanker (Jacinto *et al.*, 2011)

Menurut Winarsi (2007), tahap-tahap radikal bebas adalah sebagai berikut :

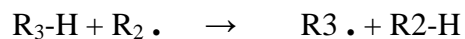
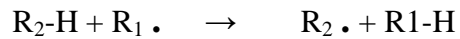
a. Tahap inisiasi

Tahap inisiasi merupakan tahap yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas, misalnya :



b. Propagasi

Propagasi merupakan perpanjangan rantai radikal, tahap ini mengawali sederetan reaksi yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas baru. Jumlah berulangnya tahap propagasi disebut rantai panjang (*chain length*)



c. Terminasi

Tahap terminasi yaitu tahap bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah. Tahap terminasi dapat digambarkan sebagai berikut:



C. Pepaya

Tumbuhan pepaya dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Milind dan Gurditta, 2011) :

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Tracheobionta
- Superdivisi : Spermatophtya
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Subkelas : Dilleniidae
- Ordo : Brassicales
- Famili : Caricaceae
- Genus : Carica
- Spesies : *Carica papaya* L

Nama umum pepaya di dunia Pawpaw, namun di berbagai Negara memiliki nama yang beragam. Misalnya di Malaysia disebut Betik, di Tamil dinamakan Pappali, di Cina dikenal dengan Pohon Melon (Tree-melon), dan di Indonesia populer dengan nama Pepaya (Rukmana, 1995).

Pepaya merupakan tanaman yang berasal dari Amerika. Ditemukan di Meksiko bagian selatan dan bagian utara dari Amerika Selatan. Tanaman pepaya menyebar ke Benua Afrika dan Asia serta India. Dari India, tanaman ini terus menyebar ke berbagai negara tropis, termasuk Indonesia di abad ke-17 (Setiaji, 2009). Menurut Kalie (2003), suku Caricaceae memiliki empat marga, yaitu carica, jarilla, jacaranta, dan cylicomorpha. Ketiga marga pertama merupakan tanaman asli Meksiko bagian selatan dan bagian utara dari Amerika Selatan, marga keempat merupakan tanaman yang berasal dari Afrika. Marga carica memiliki 24 jenis, salah satunya adalah pepaya. Negara penghasil pepaya antara lain Costa Rica, Republik Dominika, Puerto Riko, dan lain-lain. Brazil, India dan Indonesia merupakan penghasil pepaya yang cukup besar. Tanaman ini sangat mudah tumbuh di berbagai cuaca. Tanaman pepaya merupakan herba menahun, dan termasuk semak yang berbentuk pohon. Batang, daun, bahkan buah pepaya bergetah, tumbuh tegak, dan tingginya dapat mencapai 2,5-10 m. Batang pepaya tak berkayu, bulat, berongga, dan tangkai di bagian atas terkadang dapat bercabang. Pepaya dapat hidup pada ketinggian tempat 1-1.000 m dari permukaan laut dan pada kisaran suhu 22°C-26°C (Warisno, 2003).

Daun pepaya berkumpul di ujung batang dan ujung percabangan, tangkainya bulat silindris, berongga, panjang 25-100 cm. Helaian daun bulat telur dengan diameter 25-75 cm, daun berbagi menjari, ujung daun runcing, pangkal berbentuk jantung, warna permukaan atas hijau tua, permukaan bawah warnanya hijau muda, tulang daun menonjol di permukaan bawah daun. Bunga jantan berkumpul dalam tandan, mahkota berbentuk terompet, warna bunganya putih kekuningan. Pepaya memiliki bermacam-macam bentuk, warna, dan rasa. Pepaya muda memiliki biji

yang berwarna putih sedangkan yang sudah matang berwarna hitam. Tanaman ini dapat berbuah sepanjang tahun dimulai pada umur 6-7 bulan dan mulai berkurang setelah berumur 4 tahun (Dalimartha dan Hembing, 1994).

D. Kandungan Kimia Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya mengandung bahan kimia yang bermanfaat pada organ daun, buah, getah, maupun biji dan kandungan kimia dari tanaman pepaya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan kimia tanaman pepaya (Dalimartha, 2003).

| Organ | Kandungan Senyawa |
|-------|---|
| Daun | Enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo-karpaina, glikosid, karposid dan saponin, sakarosa, dekstrosa, dan levulosa. Alkaloid karpaina mempunyai efek seperti digitalis |
| Buah | β -karotena, pectin, d-galaktosa, l-arabinosa, papain, papayotimin papain, serta fitokinase |
| Biji | Glikosida kakirin dan karpain. Glikosida kakirin berkhasiat sebagai obat cacing, peluruh haid, serta peluruh kentut (karminatif) |
| Getah | Papain, kemokapain, lisosim, lipase, glutamin, dan siklotransferase |

Daun pepaya mengandung komponen aktif yang dapat meningkatkan kekuatan total antioksidan di dalam darah dan menurunkan *peroxidation level*, seperti papain, chymopapain, cystatin, α -tocopherol, ascorbic acid, flavonoid, cyanogenic glucosides dan glucosinolates (Siegler, 2002).

Daun pepaya mengandung enzim papain, alkaloid, karpain, pseudokarpain, vitamin C dan E, kolin, dan karposid. Daun pepaya juga mengandung mineral seperti kalium, kalsium, magnesium, tembaga, zat besi, zink, dan mangan (Milind dan Gurditta, 2011).

E. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia 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. Untuk memperoleh ekstrak suatu tanaman dilakukan proses ekstraksi. Metode ekstraksi dengan pelarut dapat diklasifikasikan menjadi *continuous* (misalnya, perkolasi dan soxhletasi) dan *discontinuous*.

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dan dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Maserasi merupakan metode umum yang sering digunakan di laboratorium untuk mengekstraksi sejumlah kecil bahan tanaman, bahan tanaman yang akan di ekstraksi di masukan dalam erlenmayer yang ditutup dengan aluminium foil untuk mencegah penguapan pelarut. Mekanisme dari maserasi yaitu, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel maka larutan yang pekat didesak keluar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Sarker *et al.*, 2006).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang efisien, dapat digunakan untuk ukuran sampel yang besar. Prinsip dari perkolasi, yaitu serbuk simplisa dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel

dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Sarker *et al.*, 2006). Kelebihan dari metode ini adalah sampel selalu dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam percolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area.

3. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik. Prinsip soxhletasi adalah uap cairan penyari akan naik ke atas melalui pipa samping, kemudian diembunkan kembali oleh pendingin. Cairan akan turun ke labu melalui tabung yang berisi serbuk simplisia dan cairan penyari ini akan melarutkan zat aktif dari serbuk simplisia. Dengan adanya sifon, setelah cairan mencapai permukaan sifon seluruh cairan akan kembali ke labu (Depkes RI, 1986).

4. Infundasi

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati (Depkes RI, 1986).

F. Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Pelarut yang biasa dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat dan metanol. Untuk menarik senyawa non polar dan lemak digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dengan proses fraksinasi ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang polar akan larut dalam pelarut yang bersifat non polar juga (Sari, 2012).

G. Uji Aktivitas Antioksidan

Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisiensi atau *Efficient Concentration* (EC_{50}) atau *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga EC_{50} atau IC_{50} yang rendah. Hal ini dapat dicapai dengan cara menginterpretasikan data eksperimental dari metode tersebut. DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hydrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak (Andarwulan *et al*, 1996).

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan

karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang. (Mun'im *et al.*, 2008).

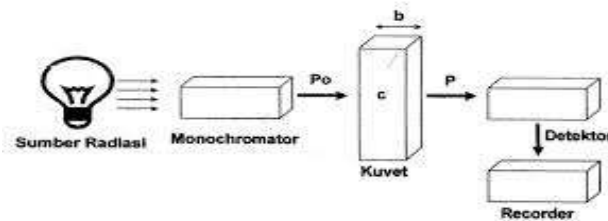
H. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer, Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 2010).

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi (Dachriyanus, 2004).

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radikal elektromagnetik (REM) dengan molekul. Radiasi elektromagnetik (REM) merupakan bentuk radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Sastrohamidjojo, 1985; Dachriyanus, 2004). Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm. Sedangkan sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004).

Komponen spektrofotometer UV-Vis antara lain sumber cahaya, monokromator, kuvet, detektor dan rekorder. Peranan setiap bagian dituntut ketelitian dan ketepatan yang optimal. Susunan komponen-komponen tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Susunan Komponen Spektrofotometer

Cara kerja dari spektrofotometer yaitu tempatkan larutan pembanding, misalnya blangko dalam sel pertama sedangkan larutan yang akan dianalisis pada sel kedua. Sinar dari sumber cahaya yang sesuai ditransmisikan melalui monokromator untuk menghasilkan panjang gelombang yang dikehendaki. Panjang gelombang kemudian dicatat oleh detektor (Sastrohamidjojo, 1985).