

BAB 1

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Dekade belakangan ini, perhatian banyak ditujukan terhadap peran radikal bebas pada berbagai patogenesis penyakit termasuk proses *aging*. Radikal bebas secara normal merupakan hasil sampingan metabolisme sel. Dalam keadaan normal, tubuh manusia telah dilengkapi dengan potensi antioksidan yang cukup banyak. Keseimbangan sulit terdeteksi terjadi antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan pada tingkat sel untuk mengatasi stres oksidatif. Adanya faktor yang mendorong pergeseran keseimbangan ke arah produksi radikal bebas yang berlebih akan menyebabkan kerusakan berbagai jaringan dan penyakit. Oleh karena itu, masalah akan mulai muncul pada saat mekanisme pertahanan kurang apabila dibandingkan dengan kelebihan produksi radikal bebas (Achmad, 2004).

Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil dan menyerang struktur molekul yang stabil. Dalam keadaan kronis dan dalam ketiadaan pertahanan, serangan ini menyebabkan kerusakan pada jaringan sehat, organ, selaput sel, pembuluh darah, protein, lemak, karbohidrat dan untai DNA bahkan di dalam sel. Kerusakan yang dihasilkan memiliki efek kumulatif dan dapat menyebabkan banyak penyakit. Kerusakan sel DNA dalam sel yang disebabkan oleh radikal bebas memiliki konsekuensi biologis yang serius seperti mutasi, transformasi karsinogenik, patologi dan penuaan selular. Pernah dilaporkan bahwa radikal bebas dapat menyebabkan kematian sel yang terprogram (apoptosis). Sebuah

radikal bebas dapat merusak enzim, molekul protein, atau seluruh sel, tetapi lebih buruk lagi, dalam nano-detik dapat melepaskan reaksi berantai yang sangat banyak dalam tubuh kita. Setiap radikal bebas dapat berinisiasi dan melancarkan jutaan radikal bebas lain, mengatur rantai perusakan secara biologis reaksi yang dapat terjadi pada tingkat selular dan molekular (Hetrick, 2003).

Menurut National Cancer Institute, radikal bebas adalah molekul dengan elektron tidak lengkap yang membuatnya secara kimiawi lebih reaktif daripada yang tidak memiliki kulit elektron yang tidak lengkap. Pada manusia bentuk yang paling umum dari radikal bebas adalah oksigen. Ketika sebuah molekul oksigen (O_2) menjadi bermuatan listrik atau teradikalisasi, maka dia akan mencoba untuk mencuri elektron dari molekul lain, menyebabkan kerusakan DNA dan molekul lain. Dengan berjalannya waktu, kerusakan tersebut kemungkinan menjadi kerusakan yang tidak bisa diperbaiki lagi dan menyebabkan penyakit termasuk kanker.

Terdapat banyak faktor internal dan eksternal yang membentuk radikal bebas: asap rokok, alkohol yang berlebihan, radiasi termasuk radiasi ultraviolet dari matahari, knalpot mobil, pestisida, herbisida, polusi, penggunaan obat, kemoterapi, pembedahan, kerusakan bakteri oleh sel darah putih, infeksi mikroba atau virus, metabolisme racun, proses peradangan, produk sampingan dari metabolisme oksigen, stres, shock, trauma, hipoksia, reaksi enzimatik, konsumsi kalori, pola makan yang buruk dan kebanyakan bahan makanan terutama pengoksidasi minyak yang terhidrogenasi (Hetrick, 2003).

Peran antioksidan adalah untuk berinteraksi dengan radikal bebas dan memadamkannya atau membuatnya menjadi tidak berbahaya (Hetrick, 2003). Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan, mendapat pasangan elektron sehingga lebih stabil (Barus, 2009).

Pada saat ini penggunaan bahan pengawet dan antioksidan sintetis tidak direkomendasikan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) karena diduga dapat menimbulkan penyakit kanker (*carcinogen agent*). Karena itu perlu dicari alternatif lain yaitu bahan pengawet dan antioksidan alami yang bersumber dari bahan alam (Barus, 2009).

Antioksidan alami adalah senyawa fenolik pada tanaman yang kemungkinan berada pada semua bagian tanaman (Gordon, 2003). Polifenol memainkan peranan penting dalam tanaman maupun dalam makanan (Murkovic, 2003). Keberadaan gugus pemberi elektron pada posisi orto dan para dalam fenol menambah aktivitas antioksidannya dengan efek penginduksi (Madhafi *et al.*, 1996).

Herba meniran, herba pegagan, herba seledri, herba sambiloto, dan herba timi merupakan beberapa tanaman asli Indonesia dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan alami. Penelitian sebelumnya membuktikan adanya aktivitas antiradikal pada kelima jenis herba kelas magnoliopsida tersebut. Isolat senyawa flavonoid quersetin dari ekstrak kloroform dan metanol herba meniran (*P. niruri* L.) telah diteliti aktivitas antioksidannya (Ahmeda *et al.*, 2009). Ekstrak air daun pegagan dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dengan

nilai IC_{50} sebesar 31,25 $\mu\text{g/mL}$ dengan tingkat fenolik sebesar 2,86 g/100 g (Pittella *et al.*, 2009). Ekstrak air seledri (daun, batang, dan bunga) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} masing-masing pada daun, batang, dan bunga adalah sebesar 189,36 ppm \pm 46,18; 665,54 ppm \pm 65,99; dan 103,07 ppm \pm 35,91 (Awal *et al.*, 2009). Ekstrak air herba timi mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 0,7 \pm 0,02 mg/mL berdasar penelitian yang telah dilakukan oleh Ramchoun *et al.* (2009). Herba sambiloto telah diteliti juga mempunyai aktivitas antioksidan (Widyastuti, 2010).

Berdasarkan hasil pemaparan diatas, terlihat adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak herba meniran, herba pegagan, herba seledri, herba sambiloto, dan herba timi. Menurut Widyastuti (2010), kandungan total fenol berkorelasi kuat dan searah dengan aktivitas antioksidan pada herba sambiloto. Akan tetapi menurut penelitian yang dilakukan oleh Dai *et al.* (2005), kadar total fenolik berkorelasi negatif dengan aktivitas penangkap radikal tanaman keladi tikus (*Thyponium divaricatum* (Linn) Decne). Hal ini disebabkan karena selain senyawa fenolik, aktivitas penangkap radikal dari ekstrak tumbuhan juga disumbangkan oleh senyawa-senyawa seperti minyak menguap, karotenoid dan vitamin C.

Kandungan-kandungan kimia dalam tanaman kelas Magnoliopsida salah satunya adalah senyawa polifenol (Ahmeda *et al.*, 2009, Pittella *et al.*, 2009, Awal *et al.*, 2009, Widyastuti, 2010, Ramchoun *et al.*, 2009). Senyawa fenolik mempunyai korelasi positif dengan aktivitas antioksidan (Huda, 2009), sehingga polifenol kemungkinan merupakan senyawa yang paling berpotensi menyumbangkan aktivitas antiradikal pada kelima ekstrak herba kelas

Magnoliopsida. Penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi dari kelima ekstrak herba tersebut sebagai bahan acuan untuk mendapatkan antioksidan dari bahan alam yang mempunyai tingkat keamanan yang lebih baik dibanding antioksidan sintetik, serta melihat kontribusi total senyawa fenolik yang terdapat dalam masing-masing ekstrak herba terhadap aktivitas antioksidannya yang ditentukan dengan menggunakan metode DPPH.

B. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, dapat dirumuskan permasalahan:

1. Bagaimanakah potensi penangkap radikal bebas pada ekstrak herba meniran, herba pegagan, herba seledri, herba sambiloto, dan herba timi?
2. Bagaimanakah korelasi potensi penangkap radikal bebas pada ekstrak herba meniran, herba pegagan, herba seledri, herba sambiloto, dan herba timi dengan kadar fenolik total yang terkandung di dalamnya?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui potensi penangkap radikal bebas pada ekstrak herba meniran, herba pegagan, herba seledri, herba sambiloto, dan herba timi.
2. Menentukan korelasi potensi penangkap radikal bebas pada ekstrak herba meniran, herba pegagan, herba seledri, herba sambiloto, dan herba timi dengan kadar fenolik total yang terkandung di dalamnya.

D. TINJAUAN PUSTAKA

1. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah sebuah atom, molekul, atau senyawa yang sangat tidak stabil karena atom atau struktur molekulnya (yaitu distribusi elektron dalam molekul). Sebagai akibatnya, radikal bebas sangat reaktif karena berusaha untuk berpasangan dengan molekul lain, atom, atau bahkan elektron tunggal untuk membuat senyawa yang stabil. Untuk mencapai posisi yang lebih stabil, radikal bebas dapat “mencuri” sebuah atom hidrogen dari molekul lain, mengikat molekul lain, atau berinteraksi melalui jalan yang bervariasi dengan radikal bebas yang lain (Defeng dan Arthur, 2003).

Terdapat banyak faktor internal dan eksternal yang membentuk radikal bebas: asap rokok, alkohol yang berlebihan, radiasi termasuk radiasi ultraviolet dari matahari, knalpot mobil, pestisida, herbisida, polusi, penggunaan obat resep, kemoterapi, pembedahan, kerusakan bakteri oleh sel darah putih, infeksi mikroba atau virus, metabolisme racun, proses peradangan, produk sampingan dari metabolisme oksigen, stres, shock, trauma, hipoksia, reaksi enzimatik, konsumsi kalori, pola makan yang buruk dan bahan makanan (Hetrick, 2003).

2. Antioksidan

Antioksidan merupakan hal yang menarik selama bertahun-tahun karena kemampuannya untuk menghambat pengembangan “*off-flavors*” dalam makanan. Namun sebuah kenaikan minat dalam komponen ini terjadi dalam beberapa tahun terakhir dikarenakan kepentingannya untuk pencegahan penyakit yang dimediasi oleh reaksi-reaksi radikal bebas *in vivo*. Timbulnya berbagai masalah kesehatan,

termasuk kanker, aterosklerosis, rheumatoid arthritis, penyakit usus inflamasi, penurunan sistem kekebalan tubuh, disfungsi otak, katarak, dan malaria mungkin tertunda dengan adanya antioksidan dari alam (Gordon, 2003).

Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan, mendapat pasangan elektron sehingga lebih stabil (Barus, 2009). Antioksidan berfungsi mengatasi atau menetralkan radikal bebas dan melindungi tubuh dari beragam penyakit, termasuk penyakit degeneratif pada usia lanjut seperti arteriosklerosis, penyakit Alzheimer serta membantu menekan proses penuaan. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan, mendapat pasangan elektron sehingga lebih stabil. Peran positif dari antioksidan adalah membantu sistem pertahanan tubuh bila ada unsur pembangkit penyakit memasuki dan menyerang tubuh (Barus, 2009).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu:

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid radikal (Vaya dan Aviram, 2001 *cit.*, Herman, 2009). Contohnya flavonoid, tokoferol, senyawa thiol yang dapat memutus rantai reaksi propagasi dengan menyumbang elektron pada peroksi radikal dalam asam lemak.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan ini mampu menghilangkan proses inisiasi oksigen radikal maupun nitrogen atau bereaksi dengan komponen atau enzim yang menginisiasi reaksi radikal antara lain dengan menghambat enzim pengoksidasi serta menginisiasi enzim pereduksi atau mereduksi oksigen tanpa membentuk spesies radikal yang reaktif. Contoh antioksidan ini antara lain sulvit, vitamin C, betakaroten, asam urat, bilirubin, dan albumin (Vaya dan Aviram, 2001 *cit.*, Herman, 2009).

3. Tanaman

a. Herba Meniran

1) Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Rosidae

Bangsa : Euphorbiales

Suku : Euphorbiaceae

Marga : Phyllanthus

Jenis : *Phyllanthus niruri* auct. non L. (Cronquist, 1981)

2) Kandungan Kimia

Flavonoid: kuersetin 3-O- β -D-glukopiranosil-(2_1)-O- β -D-ksilopiranosida, alkaloids, terpenoids, lignan: filantin, hipofilantin, polifenol, tanin, kumarin, saponin, kalium 1-O-galoil-6-O-luteoil- α -D-glukosa, β glukogalin, β -sitosterol dan asam galat (Bagalkotkar *et al.*, 2006).

3) Khasiat

Penurun kadar lemak *in vivo* (Naik dan Juvekar, 2003), anti agregasi platelet (Iizuka, 2007), hepatoprotektor (Sarkar dan Sil, 2007), anti hepatitis B (Venkateswaran, 1987).

b. Herba Pegagan (*Centella asiatica*)

1) Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Rosidae

Bangsa : Apiales

Suku : Apiaceae

Marga : Centella

Jenis : *Centella asiatica* (L.) Urb. (Cronquist, 1981)

2) Kandungan Kimia

Triterpen: asiatikosida, madecacosida, asam asiatat, dan asam madekasat, brahminosida, brahmosida, β sitosterol dan stigmasterol. Flavonoid: castilliferol dan castillicetin 2, asam klorogenat (Subban *et al.*, 2008).

3) Khasiat

Senyawa triterpen dan asam asiatik menghambat pembelahan sel kanker, adenokarsinoma dan sel melanoma dengan IC_{50} 6,25 μ g/mL (Yoshida, 2005). Penelitian klinik ekstrak pegagan terbukti mengobati selulit, lepra dan luka kaki. Senyawa-senyawa di atas menstimulasi sintesis pembentukan kolagen secara *in vitro*, kolagen adalah substansi dalam kulit yang

mempercepat penyembuhan luka. Juga memiliki sifat narkotik terhadap reseptor opiat dan anti virus herpes simpleks (de Pandua *et al.*, 1999). Ekstrak airnya berpotensi untuk menaikkan daya ingat pada penghambatan enzim fosfolipase A(2), suatu enzim abnormal dalam cerebelum (Barbosa *et al.*, 2008). Asiatikosida dari pegagan secara *in vitro* dan *in vivo* mempercepat penyembuhan luka luar (Shukla *et al.*, 1999).

c. Herba Seledri (*Apium graveolens* L.)

1) Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Rosidae

Bangsa : Apiales

Suku : Apiaceae

Marga : *Apium*

Jenis : *Apium graveolens* L. (Cronquist, 1981)

2) Kandungan Kimia

Kumarin: umbeliferon, furano kumarin, skopolentin. Saponin, tanin 1%, minyak atsiri 0,033%, vitamin A,B,C, asparagine (Siemonsma dan Kasem, 1994). Flavonoid: glikosida apiin, apigenin, luteolin 7-O-apiosilglukosida, luteolin 7-O-glukosida, apigenin 7-O-apiosilglukosida, krisoeriol 7-O-apiosilglukosida, krisoeriol 7-O-glukosida (Lin *et al.*, 2007).

3) Khasiat

Anti maag dengan menghambat bakteri *Helicobacter pylori* (Zhou *et al.*, 2009), protektif terhadap efek samping obat kanker doxorubisin secara *in vitro* (Kolarovic *et al.*, 2009), ekstraknya mencegah stres oksidatif pada hewan uji tikus (Popović *et al.*, 2006).

d. Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness)

1) Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Asteridae

Bangsa : Scrophulariales

Suku : Acanthaceae

Marga : *Andrographis*

Jenis : *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees.

(Cronquist, 1981)

2) Kandungan Kimia

Asam kersik, damar logam alkali (Anonim, 1979), terpenoid lakton: andrografolida: 14-deoksi-11,12-didehidroandrografolida, andrografolida dan neoandrografolida (Jain, 2000).

3) Khasiat

Immunostimulan (Jain, 2000), anti infeksi saluran nafas atas (Puri *et al.*, 1993) dan hepatoprotektor (Poolsup, 2004).

e. Herba Timi (*Thimus vulgaris* L.)

1) Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak Kelas : Asteridae

Bangsa : Lamiales

Suku : Lamiaceae

Marga : Thymus

Jenis : *Thymus vulgaris* L. (Cronquist, 1981)

2) Kandungan Kimia

Minyak atsiri terpenoid: 1,8-sineol, kamfor, citral, karvon, timol, karvakrol, asam lemak: linoleat, linolenat dan asam oleat, saponin triterpen, flavonoid, asam ursolat, asam kafeat, tanin dan resin (de Guzman dan Siemona, 1999).

3) Khasiat

Antibakteri termasuk sinergis dengan antibiotik menaikkan efek amfoterisin B (Giordani *et al.*, 2004), hipotensif (Aftab *et al.*, 1995), mencegah mutasi DNA (Aydin *et al.*, 2005), antiinflamasi dengan menghambat neutrofil elastase (Braga *et al.*, 2006), anti plak gigi (Charles *et al.*, 2000), mengobati luka bakar (Dursun *et al.*, 2003).

4. Vitamin E

Vitamin E merupakan antioksidan yang membantu tubuh dari efek radikal bebas (Hillan, 2006). Vitamin E merupakan zat minyak yang ditemukan pada

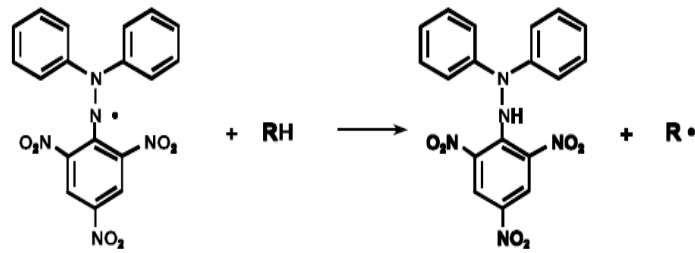
kedelai, kacang-kacangan, dan makanan lain. Vitamin E bertanggung jawab untuk kelahiran normal, untuk kesehatan sistem imun, dan untuk memperpanjang hidup dengan penangkapan radikal bebas. Vitamin E juga dikenal sebagai tokoferol (Rienstra, 2002).

Fungsi biokimia yang tepat dari vitamin E tidak diketahui, tapi sifat antioksidan dari vitamin E telah diketahui. Vitamin kemungkinan membantu mempertahankan integritas dari membran seluler, termasuk sel darah merah, dengan mencegah penyerangan radikal bebas dan pembelahan peroksida dari ikatan lemak jenuh pada komponen membran lemak, juga beraksi sebagai kofaktor dalam beberapa sistem enzim (Tyler *et al.*, 1988).

5. DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Sebuah metode sederhana telah dikembangkan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari makanan dengan memanfaatkan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrasil (DPPH) yang stabil. Elektron ganjil dalam radikal bebas DPPH memberikan serapan maksimum yang kuat pada 517 nm dan memberikan warna ungu (Prakash, 2007). Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi, dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynertson, 2007).

Metode DPPH menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrasil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dengan reaksi sebagai berikut:



Gambar 1. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Widyastuti, 2010)

6. Senyawa Fenolik

Antioksidan alami adalah senyawa fenolik pada tanaman yang kemungkinan berada pada semua bagian tanaman (Gordon, 2003). Keberadaan gugus pemberi elektron pada posisi orto dan para dalam fenol menambah aktivitas antioksidannya dengan efek penginduksi (Madhafi *et al.*, 1996).

Sejumlah besar penelitian tentang polifenol difokuskan pada sifat antioksidannya, karena dianggap memiliki efek positif terhadap penyakit degeneratif kronis (katarak, degenerasi makular yang berkaitan dengan usia, penyakit neurodegeneratif pusat, dan diabetes mellitus), penyakit kardiovaskuler, dan kanker. Polifenol juga digunakan sebagai antioksidan dalam industri makanan untuk meningkatkan *shelf-life*, yang bisa terbatas karena penurunan oleh reaksi oksidasi, terutama oksidasi lemak. Tidak hanya masalah makanan yang teroksidasi karena aroma yang dihasilkan tengik, tetapi dapat juga memiliki implikasi pada kesehatan manusia, karena meningkatnya paparan radikal bebas juga dapat meningkatkan risiko penyakit-penyakit degeneratif (Murkovic, 2003).

E. LANDASAN TEORI

Banyak penelitian yang menyatakan bahwa senyawa fenolik merupakan komponen yang bertanggungjawab atas aktivitas antioksidan. Kandungan-kandungan kimia dalam herba pegagan, seledri, sambiloto, meniran, dan timi di antaranya yaitu filantin dan hipofilantin pada herba meniran (Bagalkotkar *et al.*, 2006), apiin dan apigenin pada herba seledri (Lin *et al.*, 2007), 5,7,2',3'-tetrametoksiflavanon dan 5-hidroksi-7,2',3'-trimetoksiflavanon pada herba sambiloto (Chao dan Lin, 2010), timol pada herba timi (de Guzman dan Siemonsa, 1999), serta catechin pada herba pegagan (Heong *et al.*, 2011).

Kelima ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini didukung dengan adanya aktivitas antioksidan ekstrak kloroform dan metanol herba meniran (*P. niruri* L.) pada isolasi senyawa fenoliknya yaitu flavonoid quersetin (Ahmeda *et al.*, 2009). Ekstrak air daun pegagan dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 31,25 $\mu\text{g/mL}$ dengan tingkat fenolik sebesar 2,86 g/100g (Pittella *et al.*, 2009). Herba seledri (daun, batang, dan bunga) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} masing-masing pada daun, batang, dan bunga adalah sebesar 189,36 ppm \pm 46,18; 665,54 ppm \pm 65,99; dan 103,07 ppm \pm 35,91 (Awal *et al.*, 2009). Ekstrak air herba timi mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 0,7 \pm 0,02 mg/mL berdasar penelitian yang telah dilakukan oleh Ramchoun *et al.* (2009).

Kandungan fenolik total memiliki korelasi terhadap aktivitas antioksidan. Hal ini didukung dari penelitian Huda (2009) yang menyatakan bahwa senyawa fenolik mempunyai korelasi positif dengan aktivitas antioksidan, sehingga fenolik

kemungkinan merupakan senyawa yang bertanggung jawab untuk aktivitas antiradikal pada kelima ekstrak herba tersebut.

F. HIPOTESIS

Kandungan fenolik dalam ekstrak herba meniran, herba pegagan, herba seledri, herba sambiloto, dan herba timi akan memberikan korelasi yang positif terhadap aktivitas antiradikal dan semakin tinggi kadar fenolik dalam herba maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.