

## BAB I

### A. LATAR BELAKANG

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mempunyai satu elektron atau lebih yang tak berpasangan, bersifat sangat labil, sehingga senyawa ini sangat reaktif untuk memperoleh pasangan elektron dan merusak jaringan. Radikal bebas tersebut timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil samping dari oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi (Karyadi, 2004 cit Da'i *et al*, 2005).

Radikal bebas secara ilmiah terbukti menimbulkan penyakit degeneratif diantaranya aterosklerosis, dan abnormalitas DNA yang berakibat pada timbulnya kanker. Senyawa fenolik yang terdapat dalam tumbuhan diketahui memiliki aktivitas antiradikal (Da'i *et al*, 2005).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan yang berlebihan, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih, tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih. Senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenolat dan alkaloid. Antioksidan polifenol seperti flavonoid, *vanilin*, *eugenol*, dan *antioksidan rosemary* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik daripada antioksidan golongan vitamin (Reynertson, *et al*. 2007).

Daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.), daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth), dan daun saga (*Abri folium*) merupakan tanaman kelas magnoliopsida yang sudah lama digunakan sebagai tanaman obat. Pada penelitian terdahulu diketahui bahwa akar, daun, dan batang tanaman *Egyptian jatropha curcas* mengandung senyawa polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan (Diwani *et al*, 2009). Dari penelitian terdahulu pada tanaman kumis kucing diketahui bahwa dalam tanaman tersebut mengandung senyawa polifenol dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (Kusumaningrum, 2005). Daun saga dikenal juga sebagai *liquorice* india, daun dan akarnya biasa digunakan sebagai obat herbal untuk menyembuhkan beberapa penyakit karena mengandung polifenol dan triterpenoid (Sathis M *et al*, 2010). Dilihat dari kandungan kimia ketiga daun tersebut kemungkinan ketiga ekstrak daun tersebut berpotensi sebagai antiradikal, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi anti radikal dari ketiga ekstrak daun tersebut dengan metode DPPH serta menentukan kadar fenolik totalnya.

## **B. PERUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan uraian latar belakang, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*), daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*), dan daun saga (*Abri folium*) berpotensi sebagai antiradikal bebas?
2. Berapakah kadar fenolik total dari masing-masing ekstrak daun tersebut?
3. Bagaimana korelasi potensi antiradikal bebas ketiga ekstrak daun tersebut dengan kadar fenolik totalnya?

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui potensi antiradikal bebas tiga ekstrak etanol daun kelas magnoliopsida yaitu: ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*), ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*) dan daun saga (*Abri folium*).
2. Menetapkan kadar fenolik total dari masing-masing ekstrak daun tersebut.
3. Mengetahui korelasi antara kadar fenolik total dengan aktivitas antiradikal bebas tiga ekstrak daun tersebut.

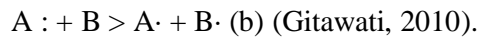
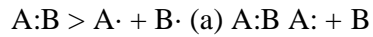
## D. TINJAUAN PUSTAKA

### 1. Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang kehilangan pasangan elektronnya. Sebagai contoh, atom oksigen ( $O_2$ ) yang normal mempunyai 4 pasang elektron. Radikal bebas dapat terbentuk melalui proses metabolisme sehari-hari yang merupakan proses biokimia, namun radikal bebas yang terbentuk bersifat sementara karena dapat dengan cepat diubah menjadi senyawa yang tidak berbahaya bagi tubuh. Tetapi bila terjadi reaksi dalam tubuh yang berlebihan maka akan terjadi perampasan elektron oksigen tersebut sehingga menjadi tidak berpasangan dan atom oksigen menjadi radikal bebas yang berusaha mengambil elektron dari senyawa lain sehingga terjadi reaksi berantai. Reaksi tersebut akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Kumalaningsih, 2008).

Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen) dan bisa pula dari luar tubuh kita (eksogen). Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi, reaksi antara besi dan logam transisi dalam tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom maupun pada kondisi iskemia (*reperfusi*). Radikal bebas eksogen berasal dari polusi udara, asap kendaraan bermotor, asap rokok, radiasi ultraviolet, berbagai bahan kimia, makanan yang terlalu hangus dan lain sebagainya (Langseth, 1995).

Secara umum, radikal bebas dapat terbentuk melalui salah satu cara sebagai berikut: (i) melalui absorpsi radiasi (ionisasi, uv, radiasi sinar tampak, radiasi panas), atau (ii) melalui reaksi redoks, dengan mekanisme reaksi fisi ikatan homolitik (a) atau pemindahan elektron (b):



Pengaruh radiasi ionisasi terhadap materi biologik akan menghasilkan bermacam-macam radikal bebas yang kompleks, terutama radikal hidrogen ( $H\cdot$ ), hidroksil ( $OH\cdot$ ), dan elektron, yang siap berinteraksi dengan biomolekul-biomolekul lain yang berdekatan. Energi panas juga dapat menghasilkan radikal bebas. Secara umum, suhu tinggi dibutuhkan untuk memecahkan ikatan kovalen, tetapi beberapa ikatan yang relatif tidak stabil dapat dipecahkan secara homolitik pada suhu  $30^{\circ}$ - $50^{\circ}C$ . Senyawa-senyawa demikian sebagian besar merupakan pencetus (*initiator*) reaksi pembentukan radikal bebas (Gitawati, 2010).

Radikal bebas bersifat sangat reaktif, dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, gugus tiol non-protein, lipid, karbohidrat, nukleotida. Terhadap protein, radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi dan *cross-linking*, sehingga mempercepat terjadinya proteolisis. Pengaruh radikal bebas pada gugus tiol enzim akan menyebabkan antara lain perubahan dalam aktifitas enzim tersebut. Terhadap lipid menyebabkan reaksi peroksidasi yang akan mencetuskan proses otokatalitik yang akan menjalar sampai jauh dari tempat asal reaksi semula. Terhadap nukleotida radikal bebas

akan menyebabkan terjadinya perubahan struktur (DNA atau RNA) yang menyebabkan terjadinya mutasi atau sitotoksisitas.

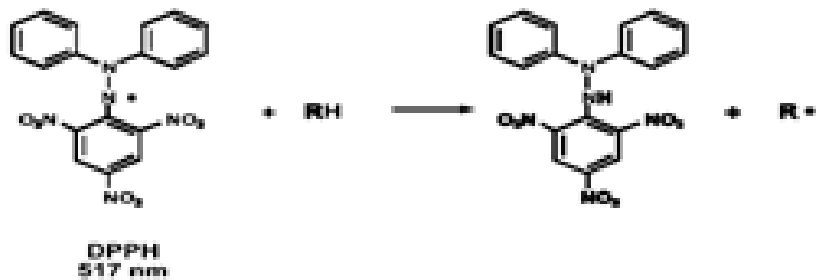
Perusakan sel oleh radikal bebas reaktif didahului oleh kerusakan membran sel, dengan terjadi rangkaian proses sebagai berikut:

- a. Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen-komponen membran (enzim-enzim membran, komponen karbohidrat membran plasma) sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor.
- b. Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transpor lintas membran terganggu.
- c. Reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA = *polyunsaturated fatty acid*). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain dengan mengubah fluiditas, *cross-linking*, struktur dan fungsi membran, dalam keadaan yang lebih ekstrim akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Gitawati, 2010).

## 2. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

DPPH adalah sebuah metode sederhana yang telah dikembangkan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari makanan, dengan menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal. Elektron pada DPPH radikal bebas memberikan maksimum serapan maksimal pada 517 nm dengan warna ungu. 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. Elektron bebas radikal DPPH berpasangan dengan hidrogen dari elektron antioksidan untuk membuat DPPH berkurang-H (Prakash *et al*, 2007). Adapun struktur DPPH dan reaksinya dengan antioksidan sebagai berikut:



**Gambar 1. struktur DPPH dan reaksinya dengan antioksidan**

( Prakash *et al* , 2007)

### 3. Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas yang relatif lebih stabil (Kumalaningsih, 2008).

Ada beberapa bentuk antioksidan, diantaranya vitamin, mineral, dan fitokimia. Berbagai tipe antioksidan bekerja bersama melindungi sel normal dan

menetralkan radikal bebas. Berdasarkan tipenya antioksidan dibagi menjadi 2 yaitu :

- a. Antioksidan sintetis: BHA (Butil-hidroksianisol), BHT (Butil-hidroksitoluen, BHQ (Butil-hidroksiquinon), propil galat, EDTA (Etilendiamin-tetraasetat) (Owusu, 2004).
- b. Antioksidan natural atau ekstrak tanaman: Vitamin C, karnosin, flavonoid, polifenol, L-askorbat palmitat, asam pitik, vitamin E, komponen tiol, tiol protein, enzim, *rosemary*, *ground mustard*, ekstrak teh (Owusu, 2004).

#### 4. Fenol

Fenol (ArOH) adalah suatu senyawa yang komponennya berupa gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Gugus OH merupakan suatu penggerak yang kuat dalam elektrofil aromatik pada reaksi substitusi. Karena suatu ikatan dari  $sp^2$ -karbon hibrida lebih kuat dari ikatan  $sp^3$ -karbon hibrida dan karena pembatasan geometris ikatan CO dari fenol tidak mudah rusak (Fessenden, 1993).

Fenolat dikenal sebagai substansi yang memiliki aktivitas antioksidan paling baik, yang termasuk ke dalam kategori antioksidan primer. Adanya gugus penyumbang elektron pada posisi orto dan para dalam meningkatkan aktivitas antioksidan fenol dengan efek induktif.

Pada konsentrasi tinggi, antioksidan fenolik kehilangan aktivitas antioksidan dan menjadi prooksidan karena keterkaitannya dalam proses inisiasi. Antioksidan fenolik menghambat substitusi kelompok alkil atau melepaskan elektron pada posisi orto atau butir di cincin aromatik yang menurunkan



efektivitas gugus OH. Kelompok elektron meningkatkan kerapatan elektron pada kelompok OH oleh efek induktif dan meningkatkan reaktivitas dengan radikal lipid. Substitusi dengan kelompok butil atau etil pada posisi para meningkatkan aktivitas dibandingkan dengan kelompok metil. Namun substitusi dengan rantai yang lebih panjang atau kelompok alkil bercabang pada posisi para mengurangi aktivitas karena halangan sterik (Madhavi *et al*, 1996).

## 5. Tanaman

### a. Daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)

#### 1) Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Rosidae

Bangsa : Euphorbiales

Suku : Euphorbiaceae

Marga : *Jatropha*

Jenis : *Jatropha curcas L.* (Cronquist, 1981).

2) Kandungan kimia : Diterpenoid, triterpen, turunan flavon, dan kumarin. Steroid: campesterol, stigmasterol, beta-sitosterol, delta5-avenasterol dan delta7-stigmasterol, flavonoid apigenin, glikosida vitexin, isovitexin (Nasi *et al*, 2004; Balaji *et al*, 2009).

3) Khasiat : Secara tradisional getah dari ujung daun segar digunakan untuk menghentikan perdarahan, maag, mengobati cacing gelang. Dekok daun mengobati diare, poliuria (banyak kencing) dan obat batuk. Obat kulit untuk skabies, obat luka, rubefacient yakni counter iritan nyeri pada rematik dan

kelumpuhan (de Pandua, 1999). Kemudian berdasarkan penelitian daun jarak pagar berpotensi sebagai obat diabetes melalui aktivator human peroxisome proliferator-activated reseptor, yakni reseptor lipid metazoan dan homeostatis glukosa dalam darah (Rau, 2006).

**b. Daun kumis kucing ( *Orthosiphon stamineus Benth* )**

1) Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Asteridae

Bangsa : Lamiales

Suku : Lamiaceae

Marga : *Orthosiphon*

Jenis : *Orthosiphon stamineus* Benth (Cronquist, 1981).

2) Kandungan kimia : Tanaman kumis kucing mengandung senyawa polifenol, flavonoid, silika, kalium, flavonoida: eupatorin, senensetin, luteolin, luteolin, cynaroside, isocynaroside, quercetin, quercimetrin, chrysoeriol, isorhamnetin, isorhamnetin 3-glycoside [1-3], kuersetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnosida dan kaempferol-3, 7- $\alpha$ -L-rhamnosida, 5-hidroksi-6,7, 39, 49-tetrametoksi flavon, salvigenin, ladanein, tetra metal scutelarein, 6-hidroksi-5,7,49-tetrametoksi flavon; asam kuinat; diterpen isopimaren teroksigenasi: 7-O-diasetil ortosipol B, 6-hidroksi ortosipol B, 3-O-deasetil ortosipol I, 2-O-diasetil ortosipol J, siponol A-E, ortosipol H, K, M, N, staminol A-B, norstaminol; vomifoliol, aurantiamida acetat, asam romarinat, asam kafeat, asam oleanolat, asam ursolat, asam betulinat dan  $\beta$ -sitosterol (Kusumaningrum, 2005; Tezuka *et al*, 2000).

- 3) Khasiat : Kumis kucing diketahui dapat berkhasiat untuk pengobatan berbagai macam penyakit yaitu: untuk pengobatan infeksi saluran kencing, mengobati kencing yang tersendat yang disertai rasa sakit, sebagai obat darah tinggi, demam, dan dapat pula digunakan untuk menyembuhkan infeksi ginjal, kencing batu, menambah nafsu makan, menghilangkan panas, dan mengobati encok (Muhlisah, 2001).

**c. Daun Saga (*Abri folium*)**

1) Kalsifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Rosidae

Bangsa : Fabales

Suku : Fabaceae

Marga : Abrus

Jenis : *Abrus precatorius* L (Cronquist, 1981).

- 2) Kandungan kimia : Triterpen: abrusosida A, B, C, D, E, abrusogenin dan asam galat (Kingkorn dan Soejarto, 2002).

- 3) Khasiat : Secara tradisional digunakan sebagai obat sariawan dan asma, dapat menurunkan kadar gula darah, dan pengganti gula untuk penderita diabetes (de Pandua *et al*, 1999; Kingkorn dan Soejarto, 2002).

**E. Landasan Teori**

Dari sejumlah penelitian pada tanaman obat dilaporkan bahwa banyak tanaman obat yang mengandung antioksidan dalam jumlah besar. Efek antioksidan terutama disebabkan karena adanya senyawa fenolik seperti

flavonoid, dan asam folat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah (Waji dan Sugrani, 2009).

Dari sejumlah penelitian yang telah dipaparkan diatas, diketahui bahwa daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*), daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*), dan daun saga (*Abri folium*), memiliki kandungan senyawa fenolik salah satunya adalah flavonoid, hal ini memungkinkan ketiga ekstrak daun tersebut berpotensi sebagai antiradikal.

#### **F. Hipotesis**

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan bahwa:

1. Ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*), ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*), dan ekstrak daun saga (*Abri folium*) berpotensi sebagai antiradikal bebas terhadap radikal DPPH.
2. Semakin tinggi kadar fenolik, maka semakin tinggi pula potensi antiradikal bebas ekstrak daun tersebut.