

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Usia panjang dan tetap sehat adalah dambaan setiap orang. Sehat berarti tubuh tidak terkena penyakit, baik mental maupun fisik. Namun, makin buruknya polusi udara dan munculnya kebiasaan mengkonsumsi makanan cepat saji yang sarat bahan pengawet dapat menjadi sumber radikal bebas yang mengakibatkan penuaan dini dan munculnya berbagai penyakit degeneratif (Sibuea, 2004). Tubuh secara produktif membentuk radikal bebas melalui mekanisme metabolisme normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat pengaruh luar seperti polusi, sinar ultraviolet, asap kendaraan bermotor, asap rokok, dan pola konsumsi tidak sehat seperti makanan cepat saji, makanan kemasan, makanan kalengan yang berpotensi meninggalkan racun dalam tubuh (Karyadi, 1997).

Radikal bebas merupakan atom-atom molekul yang sifatnya sangat tidak stabil karena memiliki satu elektron atau lebih yang tidak berpasangan sehingga untuk memperoleh pasangan elektron senyawa ini sangat reaktif dan merusak jaringan. Senyawa ini merupakan salah satu faktor penyebab abnormalitas DNA yang berimplikasi pada timbulnya kanker. Pembentukan radikal bebas berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif, di antaranya inflamasi jaringan, kelainan imunitas, infark miokard, arthritis, arterosklerosis, dan kanker (Karyadi, 1997).

Radikal bebas dapat diikat dan dinetralkan oleh beberapa senyawa, vitamin dan mineral yang bersifat antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beta

karoten mampu mengurangi resiko kanker paru-paru (Karyadi, 1997). Senyawa antioksidan sintetik yang cukup dikenal adalah *butylated hydroxy anisol* (BHA) dan *butylated hydroxy toluene* (BHT). Kedua senyawa antioksidan tersebut banyak dimanfaatkan dalam industri makanan dan minuman. Namun beberapa hasil penelitian yang dilakukan oleh beberapa ilmuwan telah membuktikan bahwa antioksidan sintetik tersebut mempunyai efek samping yang tidak diinginkan, yaitu berpotensi sebagai karsinogenik terhadap efek reproduksi dan metabolisme, bahkan dalam jangka waktu lama tidak terjamin keamanannya. Berdasarkan uji toksisitas akut dan kronis pada hewan percobaan, pemakaian antioksidan sintetik tersebut maksimal yang diperbolehkan dalam campuran makanan adalah 200 ppm (Hernani, 2005).

Tumbuh-tumbuhan diketahui kaya akan antioksidan misalnya vitamin C, beta karoten, vitamin E, dan flavonoid (Karyadi, 1997). Flavonoid adalah komponen fenolik yang terdapat dalam buah-buahan, sayur-sayuran yang bertindak sebagai penampung yang baik terhadap radikal hidroksil dan superoksida, dengan melindungi lipid membran terhadap reaksi oksidasi yang merusak (Miranda, 2005), oleh karena itu tumbuhan dapat menjadi sumber antioksidan yang potensial dan eksplorasi antioksidan alami semakin meningkat.

Selasih (*Ocimum sanctum*) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai banyak manfaat tetapi di Indonesia tanaman ini belum banyak digunakan. Ciri khas tanaman ini adalah daunnya berwarna ungu (Kardinan, 2003). Daun selasih mengandung eugenol, metil eugenol, *ocimene*, *alfa pinene*, *encalyptole*, linalool, geraniol, *methylchavicol*, *methylcinnamate*, anetol, dan *champhor* (Kardinan, 2003). Daun selasih juga memiliki antosianin, hal ini dapat

dilihat dari daunnya yang berwarna ungu. Eugenol, metil eugenol, anetol serta antosianin adalah termasuk senyawa-senyawa fenolik (Harborne, 1997). Komponen fenolik yang terdapat dalam tumbuhan memiliki kemampuan mereduksi yang berperan penting dalam menyerap dan menetralkan radikal bebas, dan dekomposisi peroksid (Javanmardi *et al.*, 2003). Selasih merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat di antaranya sebagai obat penurun panas atau obat sakit kepala, obat kulit, bengkak atau encok, pencegah malaria, obat gigi dan sariawan, pelancar air susu, antiseptik, pengusir lalat dan nyamuk, aromaterapi, pematangan abses atau bisul, pengobatan TBC (Kardinan, 2003). Selasih merupakan tanaman setahun yang tumbuh baik di daerah tropis maupun subtropik di tempat yang ketinggiannya antara 1-1000 m di atas permukaan laut (Kardinan, 2003), sehingga secara ekonomis mudah untuk dieksplorasi sebagai antioksidan alami.

Berbagai informasi di atas melatarbelakangi penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol daun selasih (*Ocimum sanctum*), dan evaluasi kandungan polifenolnya.

B. PERUMUSAN MASALAH

Permasalahan yang ingin dipecahkan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak etanol daun selasih (*Ocimum sanctum* L) mempunyai aktivitas penangkap radikal ?
2. Bagaimana aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol daun selasih jika dibandingkan dengan vitamin E ?
3. Berapa kandungan polifenol daun selasih (*Ocimum sanctum* L) ?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antiradikal ekstrak etanol 70% daun selasih (*Ocimum sanctum* L) dengan menggunakan metode DPPH dan mengevaluasi kandungan polifenolnya.

D. TINJAUAN PUSTAKA

1. Tanaman

a. Klasifikasi

Kedudukan taksonomi tanaman selasih dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermathophyta
Sub division	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Amaranthaceae
Famili	: Labiatae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Spesies	: <i>Ocimum sanctum</i> Linn. (Selasih ungu)

(Gembong, 1988)

b. Morfologi Tanaman Selasih

Herba tegak, sangat harum, tinggi 0,3-0,6 m. batang sering keunguan, tangkai daun 0,5-2 cm, helaian daun bulat telur elips atau memanjang, dengan ujung runcing bintik-bintik serupa kelenjar, pada sebelah menyebelah ibu tulang 3-6 tulang cabang, 3,5-7,7 kali 1,5-2,5 cm.

Karangan semu berbunga enam, berkumpul menjadi tandan ujung, daun pelindung elips atau bulat telur, panjang 0,5-1 cm. Kelopak sisi luar berambut, sisi dalam bagian bawah dalam tabung berambut rapat, 1 kali 0,5 cm panjangnya, gigi belakang jorong sampai bulat telur terbalik, dengan tepi mengecil sepanjang tabung, gigi samping kecil dan runcing, kedua gigi bawah berlekatan menjadi bibir bawah yang bercelah dua. Mahkota bibir 2, panjang 8-9 mm, dari luar rambut, bibir atas bertaju 4, bibir bawah rata. Tangkai dari kelopak buah tegak dan tertekan pada sumbu dari karangan bunga, dengan ujung bentuk kait melingkar, seolah-olah duduk dan dengan mulut yang terarah miring merendah. Kelopak buah 6-9 mm panjangnya. Buah keras warna coklat tua, gundul, waktu dibasahi membengkak sekali, sering ditanam. Lebih sering menjadi liar, tumbuh di tempat dengan ketinggian 1-450 m di atas permukaan laut. Di tepi jalan dan di tepi kebun, dan sebagainya.

Dapat dibedakan banyak varietas, misalnya forma *citratum* : batang hijau, mahkota putih, berbau sereh ; forma *violaceum* ; batang ungu, mahkota ungu, berbau adas (Steenis, 1997).

c. Kandungan Kimia

Umumnya tanaman selasih mengandung beberapa bahan aktif seperti eugenol, metil eugenol, *ocimene*, *alfa pinene*, *encalyptole*, linalool, geraniol, *methylchavicol*, *methylcinnamate*, anetol, dan *champor*. Bahan-bahan tersebut antara lain terkandung dalam daun (Kardinan, 2003).

4. Khasiat dan Kegunaan Selasih

Tanaman selasih dapat digunakan sebagai obat penurun panas atau obat sakit kepala, obat kulit, bengkak atau encok, pencegah malaria, obat gigi dan sariawan, pelancar air susu, antiseptik, pengusir lalat dan nyamuk, aromaterapi, pematangan abses atau bisul, pengobatan TBC (Kardinan, 2003).

2. Metode penyarian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain dan biasanya berupa bahan yang telah dikeringkan (Anonim, 2005).

a. Penyarian

Proses ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih di mana zat yang diinginkan larut. 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 masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sediaan ekstrak dibuat agar zat berkhasiat dari simplisia mempunyai kadar yang tinggi sehingga memudahkan dalam pengaturan dosis (Ansel, 1989).

b. Larutan penyari

Pemilihan larutan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Larutan penyari yang baik harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah

diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan oleh peraturan. Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol-air, eter (Anonim, 1986).

Air sebagai pelarut tunggal jarang digunakan karena air akan memisahkan dan meninggalkan endapan yang tidak diinginkan pada proses ekstraksi. Kebanyakan zat aktif tumbuhan merupakan senyawa kimia organik yang kompleks sehingga kurang dapat larut dalam air (Ansel, 1989).

Etanol sebagai larutan penyari dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lainnya adalah sifatnya untuk mengendapkan bahan putih telur dan menghambat enzim. Umumnya berlaku sebagai bahan pengekstraksi dalam campuran bahan pelarut yang berlainan, terutama campuran etanol-air. Etanol 70% sangat sering digunakan dan dapat menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi (Voigt, 1995).

Mekanisme kerja dari campuran hidroalkohol merupakan pelarut gabungan dari air dan alkohol, dan karena kedua pelarut mudah tercampur, memungkinkan kombinasi yang fleksibel untuk membentuk campuran pelarut yang sesuai untuk mengekstraksi bahan aktif dari bahan obat (Ansel, 1989).

c. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi merupakan proses merendam bahan simplisia yang telah dihaluskan dengan

menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut (Ansel, 1989).

Selama proses maserasi, bahan direndam dalam wadah bermulut lebar, ditutup rapat, disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan isinya dikocok berulang-ulang selama 4-10 hari. Menurut pengalaman 5 hari sudah memadai untuk memungkinkan berlangsungnya proses yang menjadi dasar dengan cara ini. Pengocokan diulangi kira-kira tiga kali sehari. Adanya pengocokan ini, memberikan suatu keseimbangan konsentrasi bahan ekstraktif yang lebih cepat kedalam cairan penyari. Keadaan diam dalam proses maserasi menyebabkan turunnya perpindahan zat aktif. Semakin besar perbandingan simplisia dengan cairan ekstraksi semakin baik hasil yang diperoleh. Setelah maserasi, maka rendaman diperas dengan kain pemeras, kemudian ampas dicuci dengan bahan ekstraksi. Pencucian ini dilakukan untuk memperoleh sisa kandungan bahan aktif dan untuk menyeimbangkan kembali kehilangan saat penguapan yang terjadi pada penyarian dan pengepresan (Ansel, 1989).

Keuntungan maserasi adalah cara kerja dan peralatan yang digunakan relatif sederhana. Sedangkan kerugian maserasi adalah membutuhkan banyak pelarut, waktu yang dibutuhkan sampai berhari-hari dan hasil ekstraksi kurang akurat (Ansel, 1989).

d. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode penyarian yang menggunakan alat soxhlet. Pada proses ini, sampel yang akan diekstraksi dimasukkan dalam

sebuah kantung ekstraksi, lalu diletakkan dibagian alat soxhlet, dan digenangi dengan pelarut yang cocok. Pemanasan yang dilakukan akan menyebabkan pelarut menguap ke atas dan akan diembunkan oleh pendingin udara menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali, bila melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi yang berulang-ulang dan menghasilkan sirkulasi yang baik (Harborne, 1987). Keuntungan soxhletasi adalah membutuhkan pelarut yang sedikit, karena penyarian terjadi berulang-ulang sehingga simplisia terus menerus diperbaharui dan zat yang tersari di dalam pelarut lebih banyak. Kerugian dari prosedur soxhletasi biasanya hanya dipergunakan untuk konstituen-konstituen yang relatif aman terhadap pengaruh pemanasan dan hanya dipergunakan untuk simplisia tumbuhan dalam jumlah yang kecil oleh karena keterbatasan daya tampung dari alat soxhlet tersebut (Voigt, 1995).

e. Perkolasi

Perkolasi (*percolare* = penetesan) dilakukan dalam wadah berbentuk silindris atau kerucut (percolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengestraksi dialirkan secara berkesinambungan dari atas, mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang pada umumnya berupa serbuk kasar. Melalui penyegaran bahan pelarut secara berkesinambungan, akan terjadi proses maserasi bertahap banyak (Voigt, 1995).

3. Antioksidan

Antioksidan adalah molekul-molekul yang dapat menetralkan radikal bebas dengan menerima atau memberikan sebuah elektron untuk menghilangkan elektron yang tidak berpasangan. Hal ini berarti molekul antioksidan dapat menjadi radikal pada proses penetralan molekul radikal bebas menjadi molekul non radikal. Tetapi molekul antioksidan radikal pada umumnya kurang reaktif dari pada molekul radikal bebas yang dinetralkan (Best, 2006). Menurut Cuppert (1997) Disitir Widjaya (2003) antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi (Trilaksani,2003).

Sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, secara alami telah ada dalam tubuh kita. Antioksidan dibedakan menjadi dua dari asal terbentuknya yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan yang diproduksi oleh tubuh (endogen) berupa enzim superoksid dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GSH Px), katalase serta non enzim yaitu senyawa protein kecil glutathion. Ketiga enzim tersebut dibantu asupan antioksidan dari luar (eksogen) yang berasal dari bahan makanan misalnya vitamin C, vitamin E, betakaroten, dan flavonoid (Karyadi, 1997).

Menurut Karyadi (1997) antioksidan dapat dibedakan menjadi :

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer ini bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru. Ia mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum radikal bebas ini

sempat bereaksi. Contoh antioksidan ini adalah enzim SOD (superoksid dismutase) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas.

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder ini berfungsi menangkap senyawa serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder: vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, bilirubin dan albumin.

3. Antioksidan tersier

Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin reduktase. Adanya enzim-enzim perbaikan DNA ini misalnya berguna untuk mencegah penyakit kanker (Karyadi, 1997).

4. Mekanisme Kerja Antioksidan

Membran sel tersusun dari lemak tidak jenuh. Lemak tak jenuh pada membran sel ini sangat rentan terhadap kerusakan yang disebabkan radikal bebas dan akan terjadi reaksi berantai yang tak terkontrol. Kerusakan oksidatif, nama lain untuk reaksi kimia yang disebabkan oleh radikal bebas, dapat mendorong terjadinya gangguan atau bahkan pengerasan lipid yang terjadi pada seluruh membran sel. Jika membran sel mengeras, maka sel tersebut tidak akan mendapatkan nutrisi yang cukup, mendapatkan sinyal dari sel lain, dan banyak mempengaruhi aktifitas-aktifitas sel lainnya. Selain membran sel, ada molekul-molekul biologi yang rentan pula terhadap kerusakan termasuk RNA, DNA, dan enzim. Oleh karena itu, kerusakan DNA secara luas yang terus-menerus dan

inaktivasi mitokondria, dapat mengakibatkan matinya sel dan penuaan makhluk hidup. Karenanya radikal bebas dapat mengganggu seluruh fungsi sel (Anonim, 2002). Langkah yang tepat untuk menghadapi serangan radikal bebas adalah dengan mengurangi paparannya atau mengoptimalkan pertahanan tubuh melalui aktifitas antioksidan (Sauriasari, 2006).

Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberi atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^\bullet , ROO^\bullet) atau mengubahnya ke bentuk stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^\bullet) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipid. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju antioksidan dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai oksidan dengan mengubah radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990).

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi antioksidan minyak dan lemak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi, dapat dilihat pada gambar 1. Radikal-radikal antioksidan (A^\bullet) yang terbentuk pada reaksi tersebut stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru. (Gordon, 1990). Menurut Hamilton (1983), radikal-radikal antioksidan dapat bereaksi membentuk produk non radikal.



Gambar 1. Reaksi Penghambatan Antioksidan Primer Terhadap Radikal Lipid (Gordon, 1990).

Stuckey (1972) berpendapat bahwa penghambatan oksidasi lipida oleh antioksidan melalui lebih dari satu mekanisme tergantung pada kondisi reaksi. Ada tiga kemungkinan mekanisme penghambatan tersebut yaitu (a) pemberian hidrogen, (b) pemberian elektron, (c) penambahan lipida pada cincin aromatik antioksidan. Antioksidan sekunder seperti asam sitrat, asam askorbat, dan esternya, sering dikombinasikan dengan antioksidan primer. Kombinasi ini dapat memberi efek sinergis sehingga menambah keefektifan kerja antioksidan primer. Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme berikut (a) memberikan suasana asam, (b) meregenerasi antioksidan primer, (c) mengkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan, (d) menangkap oksigen, (e) mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen (Gordon, 1990).

5. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya sangat tidak stabil (mempunyai satu elektron atau lebih yang tanpa pasangan), sehingga untuk memperoleh pasangan elektron senyawa ini sangat reaktif dan merusak jaringan. Senyawa radikal bebas tersebut timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga yang

berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar, dan radiasi matahari atau radiasi kosmis (Karyadi, 1997).

Karena secara kimia molekulnya tidak lengkap, radikal bebas cenderung mengambil partikel dari molekul lain, yang kemudian menimbulkan senyawa tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh. Radikal bebas inilah yang menyebabkan berbagai keadaan patologis seperti penyakit lever, jantung koroner, katarak, penyakit hati dan dicurigai proses penuaan dini ikut berperan (Karyadi,1997).

Sumber radikal bebas, baik endogen maupun eksogen terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi. Yang pertama pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir (terminasi), yaitu pemusnahan atau perubahan menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif. Sumber radikal endogen dapat melewati autooksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron dalam mitokondria. Sedangkan sumber eksogen radikal bebas yakni berasal dari luar tubuh diantaranya sinar UV, baik sinar UVA maupun sinar UVB (Sofia, 2006).

Sebenarnya, reaksi pembentukan radikal bebas merupakan mekanisme biokimia tubuh normal. Radikal bebas lazimnya hanya bersifat perantara yang bisa dengan cepat diubah menjadi substansi yang tak lagi membahayakan tubuh. Namun, bila radikal bebas sempat bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh ganda, maka merupakan awal dari kerusakan sel yang antara lain:

a. Kerusakan DNA pada inti sel

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA di samping penyebab lain seperti virus, radiasi, dan zat kimia karsinogen. Bila kerusakan tidak terlalu parah, masih dapat diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Namun, bila sudah menyebabkan rantai DNA terputus di berbagai tempat, kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel akan terganggu. Bahkan terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu dalam tubuh yang dapat menimbulkan penyakit kanker.

b. Kerusakan membran sel

Komponen terpenting membran sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Kalau ini terserang struktur dan fungsi membran akan berubah yang dalam keadaan ekstrem akhirnya mematikan sel-sel pada jaringan tubuh.

c. Kerusakan protein

Terjadinya kerusakan protein akibat serangan radikal bebas ini termasuk oksidasi protein yang mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu berada. Contohnya kerusakan protein pada lensa mata yang mengakibatkan katarak.

d. Kerusakan lipid peroksida

Ini terjadi bila asam lemak tak jenuh terserang radikal bebas. Dalam tubuh kita, reaksi antar zat gizi tersebut dengan radikal bebas akan menghasilkan peroksidasi yang selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan

sel, yang di anggap salah satu penyebab terjadinya berbagai penyakit degeneratif (kemerosotan fungsi tubuh).

e. **Proses penuaan.**

Umumnya, semua sel jaringan organ dapat menangkal serangan radikal bebas karena di dalamnya terdapat sejenis enzim khusus yang mampu melawan. Namun, karena manusia secara alami mengalami degradasi seiring dengan peningkatan usia akibat radikal bebas itu sendiri, otomatis pemusnahannya tidak pernah mencapai 100% meski secara teori dapat dipunahkan oleh berbagai antioksidan. Belum lagi adanya rangsangan untuk membentuk radikal bebas yang berasal dari lingkungan sekitar. Karena itu, secara perlahan-lahan tapi pasti, terjadi kerusakan jaringan oleh radikal bebas yang tidak terpunahkan.

Kerusakan jaringan secara pelan ini merupakan proses terjadinya ketuaan, seperti kehilangan elastisitas jaringan kolagen dan otot sehingga kulit tampak keriput, terjadinya lipofuchsin atau bintik-bintik pigmen kecoklatan di kulit yang merupakan timbunan sisa pembakaran dalam sel. Yang ingin awet muda tentu perlu banyak mengkonsumsi zat gizi yang meminimalkan efek radikal bebas ini.

f. **Dapat menimbulkan autoimun.**

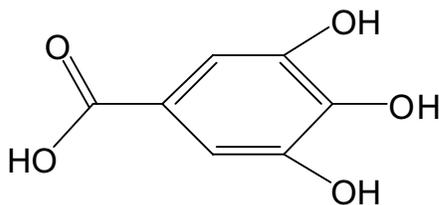
Dalam keadaan normal, antibodi hanya terbentuk bila ada antigen yang masuk dalam tubuh. Autoimun adalah terbentuknya antibodi terhadap suatu sel tubuh biasa dan hal ini dapat merusak jaringan tubuh dan sangat berbahaya. (Karyadi, 1997).

6. Senyawa Fenolik

Senyawa fenol (ArOH) ialah senyawa dengan suatu gugus OH yang terikat pada cincin aromatik (Fessenden and Fessenden, 1997). Senyawa alami antioksidan tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini bersifat multifungsional karena dapat bereaksi sebagai pereduksi penangkap radikal bebas, pengkelat logam, dan peredam terbentuknya singlet oksigen (Trilaksani,2003).

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang memiliki ciri yang sama, yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena sering berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harborne,1987).

Asam galat (*3,4,5-trihidroksi benzoic acid*) merupakan salah satu senyawa fenol yang memiliki aktifitas antijamur, antivirus, memiliki kemampuan sitotoksik melawan sel kanker tanpa merusak sel tubuh lainnya, antioksidan dan agen antikarsinogenik. Kemampuan antioksidan dari asam galat lebih kuat dari trolox, suatu analog dari vitamin E yang larut dalam air (Sohi *et al.*, 2003). Struktur kimia asam galat dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia Asam Galat (Fukumoto, *et al.*, 2000)

Penetapan kadar fenol total dalam ekstrak dapat dilakukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu (Lee *et al.*, 2003). Penetapan kadar dengan Folin-Ciocalteu test mula-mula digunakan untuk menetapkan kadar tirosin. Metode ini dapat mengukur kandungan protein cuplikan hingga 5 µg (Tranggono dan Setiaji, 1989). Folin-Ciocalteu berisi natrium tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), natrium molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), asam klorida (HCl), asam fosfat (H_3PO_4), dan lithium sulfat ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) untuk memberikan warna kuning (Huang *et al.*, 2005).

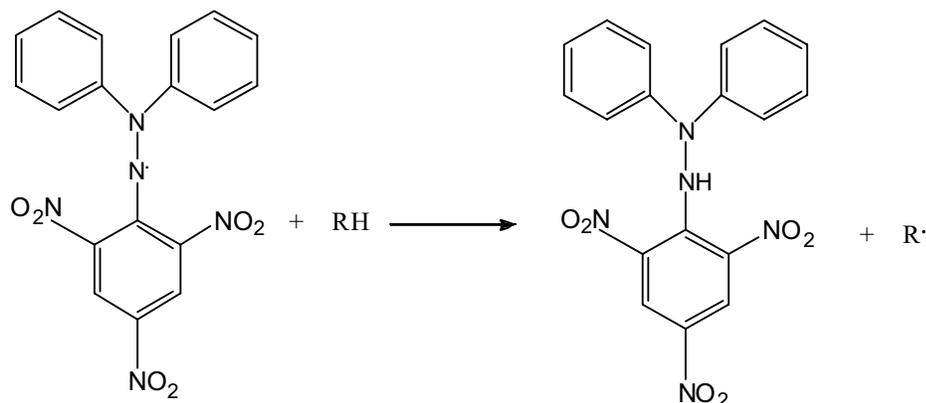
7. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil)

Pengukuran aktivitas antiradikal merupakan parameter untuk menguji aktivitas antioksidan, untuk uji aktivitas antioksidan ini, metode yang paling umum adalah metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil, sehingga apabila digunakan cukup dilarutkan dan tidak perlu dibuat *recenter paratus* dengan cara mereaksikan pereaksi-pereaksi sebagaimana yang dilakukan pada radikal bebas nitrit oksida. Senyawa ini jika disimpan dalam keadaan kering dan kondisi penyimpanan yang baik akan tetap stabil selama bertahun-tahun (Windono dkk., 2001). Struktur DPPH dan mekanisme reduksinya oleh antioksidan dapat dilihat pada gambar 3.

DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti etanol. DPPH merupakan radikal yang stabil yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang sekitar 520 nm (Molyneux, 2004).

Sebagai akibatnya maka penambahan senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal akan menurunkan konsentrasi DPPH. Adanya penurunan konsentrasi DPPH akan menyebabkan penurunan absorbansinya dibandingkan dengan absorbansi kontrol yang tidak diberi dengan senyawa uji yang diduga mempunyai aktivitas antiradikal (Rohman dan Riyanto, 2004).



Gambar 3. Struktur DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan Mekanisme Reduksi oleh Antioksidan (Prakash, 2001).

8. Spektrofotometri

Spektrofotometer adalah alat terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrometer adalah alat penghasil sinar spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif, jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 1990).

Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada

molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Mulya dan Suharman, 1995).

Ada tiga macam distribusi elektron didalam suatu senyawa organik secara umum, yang dikenal sebagai orbital elektron pi (π), sigma (σ), dan elektron tidak berpasangan (n). Apabila pada molekul dikenakan radiasi eletromagnetik maka akan terjadi eksitasi elektron ke tingkat energi yang lebih tinggi yang dikenal sebagai orbital orbital elektron “*anti bonding*“. Eksitasi elektron ($\sigma\text{-}\sigma^*$) memberikan energi yang terbesar dan terjadi pada daerah ultraviolet dekat yang diberikan oleh ikatan tunggal, sebagai contoh alkana. Sedangkan eksitasi elektron ($\pi\text{-}\pi^*$) diberikan oleh ikatan rangkap dua dan tiga (alkena dan alkuna) terjadi pada daerah ultraviolet jauh. Pada gugus karbonil akan terjadi eksitasi elektron ($n\text{-}\pi^*$) yang terjadi pada ultraviolet dekat (Mulya dan Suharman, 1995).

Panjang gelombang yang dipakai dalam suatu analisis dipilih sedemikian rupa sehingga sampel akan mengabsorbsi radiasi pada panjang gelombang tersebut dan sedapat mungkin tidak dipengaruhi oleh kemungkinan zat pengganggu atau variasi prosedur. Bila zat sampel berwarna maka warna komplementer merupakan petunjuk kira-kira panjang gelombang yang digunakan (Sudarmadji, dkk, 1995).

Beberapa warna dan warna komplementer dalam spektrum cahaya tampak tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Warna dan Warna Komplementer Dalam Spektrum Cahaya Tampak/Terlihat

Panjang gelombang (nm)	Warna	Warna komplementer
400 – 435	Lembayung (violet)	Kuning hijau
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Hijau biru	Jingga
490 – 500	Biru hijau	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu
560 – 580	Kuning hijau	Lembayung
580 – 595	Kuning	Biru
595 – 610	Jingga	Hijau biru
610 – 750	Merah	Biru hijau

(Day dan Underwood, 1986)

E. HIPOTESIS

Selasih merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak kandungan senyawa fenolik. Senyawa fenolik dalam daun selasih (*Ocimum sanctum* L) antara lain berupa eugenol, geraniol, anetol, dan flavonoid misalnya antosianin. Senyawa fenolik dalam tumbuhan diketahui dapat berkhasiat sebagai antioksidan alami. Salah satu mekanisme antioksidan adalah sebagai antiradikal. Dari kandungan senyawa fenolik, diduga ekstrak etanol daun selasih (*Ocimum sanctum* L) memiliki aktivitas sebagai antiradikal.